



BIBLIOTHECA
UNIV. JAGELL.
CRACOVENSIS

A 524026

II

ROZPRAWY HABILITACYJNE UNIWERSYTETU JAGIELLOŃSKIEGO
COLLEGIUM MEDICUM
WYDZIAŁ LEKARSKI

LUCYNA MASTALERZ

PODOBIENSTWA
ZABURZEŃ EIKOZANOIDÓW
W SKÓRNEJ I OSKRZELOWEJ
POSTACI NADWRAŻLIWOŚCI
NA ASPIRYNĘ



WYDAWNICTWO UNIWERSYTETU JAGIELLOŃSKIEGO

PODOBIENSTWA
ZABURZEŃ EIKOZANOIDÓW
W SKÓRNEJ I OSKRZELOWEJ
POSTACI NADWRAŻLIWOŚCI
NA ASPIRYNĘ



Bibl. Jag.

II Katedra Chorób Wewnętrznych
Collegium Medicum Uniwersytetu Jagiellońskiego
Klinika Pulmonologii

Kierownik Katedry: Prof. dr hab. med. Andrzej Szczeklik
Kierownik Kliniki: Prof. dr hab. med. Ewa Nizankowska-Mogilnicka

LUCYNA MASTALERZ

PODOBIENSTWA
ZABURZEŃ EIKOZANOIDÓW
W SKÓRNEJ I OSKRZELOWEJ
POSTACI NADWRAŻLIWOŚCI
NA ASPIRYNĘ



Biblioteka Jagiellońska



1000756270

WYDAWNICTWO UNIwersYTETU JAGIELLOŃSKIEGO

RECENZENT WYDAWNICZY

Prof. dr hab. med. Iwona Florentyna Grzelewska-Rzymowska
Uniwersytet Medyczny w Łodzi

© Copyright by Lucyna Mastalerz
All rights reserved
Wydanie I. Kraków 2004

OPRACOWANIE REDAKCYJNE

Dorota Węgierska

Zdjęcie na str. 2

Stanisław Markowski

ISBN 83-233-1928-6

www.wuj.pl

Wydawnictwo Uniwersytetu Jagiellońskiego
Redakcja: ul. Karmelicka 27/4, 31-131 Kraków
tel. (012) 423-31-87, tel./fax (012) 423-31-60
Dystrybucja: ul. Bydgoska 19 C, 30-056 Kraków
tel. (012) 638-77-83, (012) 636-80-00 w. 2022
fax (012) 423-31-60, (012) 636-80-00 w. 2023
tel. kom. 0506-006-674, e-mail: wydaw@if.uj.edu.pl
Konto: BPH PBK SA IV/O Kraków nr 62 1060 0076 0000 3200 0047 8769

*Panu Profesorowi Andrzejowi Szczeklikowi
składam serdeczne podziękowanie za ogromną życzliwość,
inspirację i cenne rady udzielone mi podczas pisania tej pracy*

*Dziękuję Pani Profesor Ewie Niżankowskiej-Mogilnickiej
za trud włożony w moje kształcenie w dziedzinie alergologii i pulmonologii*

SPIS TREŚCI

WYKAZ SKRÓTÓW	9
WSTĘP	11
Astma oskrzelowa z nadwrażliwością na aspirynę	11
Historia nadwrażliwości na aspirynę	11
Definicja, obraz kliniczny, rozpoznanie i leczenie astmy aspirynowej	12
Mechanizmy patogenetyczne astmy aspirynowej w świetle przemian kwasu arachi- donowego	14
Zmienność genetyczna białek zaangażowanych w biosyntezę eikozanoidów	16
Pokrzywkowo-obrzękowa postać nadwrażliwości na aspirynę	18
Obraz kliniczny i patomechanizm pokrzywki aspirynowej	18
Patogeneza przewlekłej pokrzywki idiopatycznej	19
Różne formy nadwrażliwości na aspirynę	20
ZAŁOŻENIA I CEL PRACY	21
MATERIAŁ I METODY	23
Zasady kwalifikacji chorych do badania	23
Osoby badane	23
Metody badania	24
Doustny test prowokacyjny z aspiryną	25
Ocena stopnia ciężkości zmian skórnych	25
Pomiar natężonej objętości wydechowej pierwszosekundowej (FEV ₁)	27
Oznaczenie stężenia LTE ₄ w moczu	27
Oznaczenie stężenia trwałego metabolitu PGD ₂ (9α,11βPGF ₂) w surowicy	27
Oznaczenie stężenia tryptazy w surowicy	27
Genotypowanie polimorfizmu genu syntazy LTC ₄	28
Test skóry z aspiryną	28
Test śródskórny z własną surowicą (autologiczny)	28
Opracowanie statystyczne	28
WYNIKI	31
Reakcja kliniczna na doustną prowokację aspiryną	31
Wydalanie LTE ₄ z moczem	34

Stężenie trwałego metabolitu PGD ₂ (9α,11βPGF ₂) w surowicy	37
Tryptaza w surowicy	39
Genotypowanie polimorfizmu regionu promotorowego syntazy LTC ₄	39
Testy skórne z aspiryną i własną surowicą.....	40
 DYSKUSJA	 41
Podział chorych na grupy w zależności od wyniku testu prowokacyjnego z aspiryną	41
Podobieństwa zaburzeń przemiany leukotrienów i prostaglandyn w astmie i pokrzywce aspirynowej.....	42
Polimorfizm genetyczny syntazy LTC ₄ i jego związek z fenotypem pokrzywki	45
Przypuszczalne patomechanizmy przewlekłej pokrzywki idiopatycznej indukowanej aspiryną.....	46
 WNIOSKI.....	 49
 STRESZCZENIE	 51
 PIŚMIENNICTWO	 53

WYKAZ SKRÓTÓW

AIA	astma aspirynowa (<i>aspirin-induced asthma</i>)
AIANE	Europejska Sieć Aspirynowa (<i>European Network on Aspirin-Induced Asthma</i>)
AIU	pokrzywka aspirynowa (<i>aspirin-induced urticaria</i>)
ASA	aspiryna, kwas acetylosalicylowy (<i>acetylsalicylic acid</i>)
ASST	test autologiczny śródskórny z własną surowicą (<i>autologus serum skin test</i>)
CIU	przewlekła pokrzywka idiopatyczna (<i>chronic idiopathic urticaria</i>)
COX-1	cyklooksyzgenaza 1
COX-2	cyklooksyzgenaza 2
CysLT1	receptor leukotrienów cysteinylowych 1
CysLT2	receptor leukotrienów cysteinylowych 2
cys-LT	leukotrieny cysteinylowe
9 α ,11 β PGF ₂	trwały metabolit prostaglandyny D ₂
Fc ϵ R1 α	podjednostka α receptora dla IgE o wysokim powinowactwie
FEV ₁	natężona objętość wydechu pierwszosekundowa
GC-NICI-MS	chromatografia gazowa i spektrometria mas, techniką ujemnej jonizacji chemicznej
GLM	model liniowy (<i>General Linear Model</i>)
IgE	immunoglobulina E
IgG	immunoglobulina G
LTA ₄	leukotrien A ₄
LTB ₄	leukotrien B ₄
LTC ₄	leukotrien C ₄
LTC ₄ S	syntaza leukotrienu C ₄
LTD ₄	leukotrien D ₄
LTE ₄	leukotrien E ₄
NSLPZ	niesteroidowe leki przeciwzapalne
8-epi-PGF _{2α}	8-epi-prostaglandyna F _{2α}
PASI	skala zmian skórnych (<i>Psoriasis Area and Severity Index</i>)
PD	dawka prowokacyjna (<i>provocation dose</i>)
PGD ₂	prostaglandyna D ₂
PGE ₂	prostaglandyna E ₂
PGF ₂	prostaglandyna F ₂

5-LO	5-lipoksygenaza
15-HETE	kwasy 15-hidroksyeikozatetraenowe
PGF ₂ α	prostaglandyna F ₂ α
SNP	polimorfizm pojedynczego nukleotydu (<i>single nucleotide polymorphism</i>)
SP-1	czynniki transkrypcyjne SP-1
TLC	chromatografia cienkowarstwowa
TXB ₂	tromboksan B ₂

WSTĘP

Astma oskrzelowa z nadwrażliwością na aspirynę

Historia nadwrażliwości na aspirynę

Właściwości przeciwbólowe, przeciwzapalne i przeciwgorączkowe salicylanów, stosowanych pod postacią wywarów z kory wierzby i soku z topoli, znane są od czasów Hipokratesa [145]. Jednak dopiero w 1763 roku Edward Stone przeprowadził pierwsze badanie z grupą kontrolną, które wskazywało na skuteczność leczenia zapalenia stawów wyciągiem z kory wierzby [125]. Trzeba było kolejnych stu lat, aby z tego wyciągu wyizolować glikozyd i opracować syntezę chemiczną salicylanu sodu [67, 145].

Aspiryna (kwas acetylosalicylowy) została zsyntetyzowana w 1897 roku przez Feliksa Hoffmana. Inspiracją do poszukiwania przez niego dobrego leku przeciwbólowego była chęć pomocy ojcu, który cierpiał przez wiele lat na gościec stawowy i nie mógł zażywać gorzkiego w smaku kwasu salicylowego [145]. W dwa lata później masową produkcję aspiryny rozpoczęła firma Bayer. Od tej pory aspiryna zastąpiła gorzki kwas salicylowy i stała się najczęściej używanym lekiem na świecie, dostępnym bez recepty [22]. W kilka lat później, w 1902 roku, poznański lekarz Hirschberg opisał pierwszego chorego, u którego po zażyciu tabletki aspiryny wystąpił obrzęk naczynioruchowy [46]. W 1911 roku Gilbert przedstawił pierwszą chorą na astmę oskrzelową, u której aspiryna wywołała silny napad duszności [30]. Do historii związanej z nadwrażliwością na aspirynę przeszedł rok 1922, w którym to Widal opisał zespół kliniczny zwany „triadą aspirynową”. Zespół ten charakteryzuje się polipami nosa, astmą oskrzelową oraz nadwrażliwością na aspirynę. Autor ten zauważył również, że po silnej reakcji nadwrażliwości na aspirynę ponowne jej zażycie w dwa dni później nie powoduje już tak groźnych objawów klinicznych [152].

W literaturze polskiej pierwszy opis tego zespołu pochodzi z 1925 roku i został przedstawiony przez krakowskiego lekarza Wierzuchowskiego [153].

Wiele doniesień dotyczących obserwacji i charakterystyki klinicznej chorych na astmę oskrzelową z nadwrażliwością na aspirynę zaczęło się pojawiać w drugiej połowie lat 60. XX wieku. Już wtedy Samter i Beers sugerowali nieimmunologiczny charakter reakcji nadwrażliwości na aspirynę [105]. Uważali oni, że mechanizm nadwrażliwości na aspirynę związany jest z paradoksalną stymulacją przez ten lek zmienionych

w następstwie choroby receptorów bradykininowych. Jednak ze względu na duże podobieństwo objawów nadwrażliwości na aspirynę do odczynów alergicznych typu natychmiastowego przez długi czas podejrzewano patomechanizm immunologiczny. Hipoteza ta jest jednak mało prawdopodobna, ponieważ nie wykryto specyficznych przeciwciał typu IgE przeciwko aspirynie, a także ze względu na znaczne różnice w strukturze chemicznej leków wyzwalających objawy nadwrażliwości [19].

Przełomowe odkrycie sir J. Vane'a w 1971 roku pozwoliło zrozumieć mechanizm działania aspiryny i innych niesteroidowych leków przeciwzapalnych [146]. Vane wykazał, że aspiryna hamuje aktywność cyklooksygenazy, kluczowego enzymu w produkcji prostaglandyn, które są mediatorami zapalenia i bólu. Za odkrycie to J. Vane otrzymał w 1982 roku Nagrodę Nobla w dziedzinie medycyny.

W latach 90. XX wieku odkryto istnienie dwóch izoform cyklooksygenazy: COX-1 i COX-2. Kolejne lata przyniosły zsyntetyzowanie i wprowadzenie do leczenia selektywnych inhibitorów COX-2 [41, 123, 134, 155]. Wagę odkrycia selektywnych inhibitorów COX-2 doceniła Światowa Organizacja Zdrowia, zaliczając je do nowej grupy leków zwanej koksymbami.

Definicja, obraz kliniczny, rozpoznanie i leczenie astmy aspirynowej

Astma aspirynowa (*aspirin-induced asthma* – AIA) to zespół kliniczny, w którym po zażyciu aspiryny (*acetylsalicylic acid* – ASA) lub innego niesteroidowego leku przeciwzapalnego (NSLPZ), będącego inhibitorem cyklooksygenazy, dochodzi do napadu duszności z towarzyszącą wodnistą wydzieliną z nosa, przekrwieniem spojówek oraz zaczerwienieniem skóry. Spotyka się ją u około 10% dorosłych chorych na astmę oskrzelową [23, 52, 72, 99, 135, 143], natomiast o wiele rzadziej u dzieci [48]. Astma aspirynowa występuje częściej u kobiet niż u mężczyzn (2,3:1) i ma u nich cięższy przebieg [135].

Obraz kliniczny omawianego zespołu prześledzono na podstawie obserwacji i leczenia 500 chorych na astmę aspirynową z 10 krajów europejskich, leczonych w ramach Europejskiej Sieci Aspirynowej (*European Network on Aspirin-Induced Asthma* – AIANE). Zwykle pierwszym objawem pojawiającym się około 30. roku życia jest eozynofilowe zapalenie błony śluzowej nosa z obfitą wodnistą wydzieliną. Ma ono charakter uporczywy, często prowadzi do wykształcenia polipów nosa. Z upływem miesięcy, a nieraz i lat (1–5 lat) rozwija się astma oskrzelowa i nadwrażliwość na aspirynę, która pojawia się zwykle po wystąpieniu astmy oskrzelowej, nierzadko jednak pierwszy napad duszności wyzwolony jest zażyciem aspiryny [135].

Podobne obserwacje poczyniono ostatnio u 300 chorych w Stanach Zjednoczonych Ameryki, gdzie choroba rozpoczynała się średnio w 34. roku życia, częściej u kobiet (57%) niż u mężczyzn (43%), choć przebieg kliniczny u obu płci był podobny [8].

Przedstawiciele łódzkiej szkoły profesora Jerzego Rożnieckiego, która wiele wniosła do badań nad astmą aspirynową, tak opisują ten rodzaj astmy: chorzy cierpią na szczególnie ciężką, zwykle steroidozależną astmę oskrzelową z wyraźną tendencją do rozwijania się stanów astmatycznych. Badania francuskie przeprowadzone na dużej grupie chorych na astmę oskrzelową, u których rozwinął się stan astmatyczny wymagający sztucznej wentylacji płuc, wykazały, że aż 25% z nich było nadwrażliwych na aspirynę [71].

U chorych na astmę aspirynową, mimo przewlekłego leczenia przeciwzapalnego i rozszerzającego oskrzela, średnie wartości FEV_1 wahały się w granicach 50–80% wartości należnych u 40% chorych, u około 15% zaś były nawet niższe niż 50%. Za ciężkością astmy aspirynowej przemawiają stwierdzone w tomografii komputerowej płuc zmiany typu zgrubienia ściany oskrzeli oraz dyskretne zwłóknienia w obrębie miażdżu [135].

Istnieje duża rozbieżność co do częstości występowania atopii u chorych na astmę aspirynową. Generalnie można przyjąć, że podwyższony poziom IgE w surowicy oraz dodatni wynik testów skórnych jest częstszy wśród chorych z nadwrażliwością na NSLPZ w porównaniu z populacją ogólną [12].

W badaniach dodatkowych uwagę zwraca wzrost eozynofiliów we krwi obwodowej [76], w popłuczynach z nosa [55], w popłuczynach oskrzelowo-pęcherzykowych [119] oraz w wycinkach z błony śluzowej oskrzeli [16, 83].

Do tej pory nie ma żadnych testów *in vitro*, które umożliwiłyby ustalenie rozpoznania AIA. Podejrzanie astmy aspirynowej może nasunąć dobrze zebrany wywiad. Jednak pewne rozpoznanie nadwrażliwości na aspirynę i inne NSLPZ jest możliwe dopiero na podstawie dodatniego wyniku testu prowokacyjnego z aspiryną [87]. Wyróżniamy pięć rodzajów testów prowokacyjnych z aspiryną: doustny, wziewny (inhalacyjny), donosowy, dożylny oraz dooskrzelowy. Dożylny test prowokacyjny stosowany jest prawie wyłącznie w Japonii [81]. Natomiast test donosowy z aspiryną lizynową ma raczej charakter badania przesiewowego, często nie można go wykonać ze względu na polipy nosa. Jako kryterium dodatniego testu donosowego przyjmuje się zwykle zmniejszenie przepływów nosowych o co najmniej 40% w badaniu rynomanometrycznym [75, 80].

Opisano wiele schematów inhalacyjnych i doustnych prób ekspozycyjnych ze wzrastającymi dawkami aspiryny oraz zasady bezpiecznego ich przeprowadzania i interpretacji. Test inhalacyjny z aspiryną lizynową może być przeprowadzony w ciągu jednego dnia, jest dość bezpieczny, zwykle nie wywołuje objawów ogólnych, jedynie reakcje ze strony drzewa oskrzelowego [87]. Natomiast test doustny pomimo wielu ograniczeń pozostaje nadal „złotym standardem” w diagnostyce nadwrażliwości na aspirynę. W naszym ośrodku opracowano metodę wykonywania testu doustnego w warunkach pojedynczo ślepej próby, z użyciem placebo, w ciągu dwóch kolejnych dni ze wzrastającymi dawkami aspiryny, aż do jej dawki kumulacyjnej wynoszącej 500 mg. Za dodatni wynik, zarówno doustnego, jak i inhalacyjnego testu prowokacyjnego z aspiryną, przyjmuje się spadek wartości FEV_1 o 20% lub więcej [87].

W celach badawczych stosuje się wziewne lub dooskrzelowe podanie aspiryny lizynowej, połączone z oceną zmian błony śluzowej oskrzeli oraz składu komórkowego płynu oskrzelowo-pęcherzykowego [83, 119, 142].

Leczenie chorych na astmę aspirynową przebiega zgodnie z ogólnie przyjętymi zasadami postępowania w astmie. Ze względu na obecność eozynofilowego zapalenia błony śluzowej nosa ważne jest donosowe leczenie kortykosteroidami [74]. Panuje pewien optymizm w leczeniu tego typu astmy lekami antyleukotrienowymi, zarówno inhibitorami ich syntezy (zileuton), jak i antagonistami receptorów cysteinylowych (montelukast, pranlukast, zafirlukast) [17, 18, 77, 139].

W badaniach polsko-szwedzkich w czasie leczenia 40 chorych na astmę aspirynową inhibitorem 5-LO (zileutonem) w dawce 2400 mg/d obserwowano poprawę wartości spirometrycznych, mniejsze zużycie β_2 -mimetyków na żądanie, zmniejszenie nieswoistej

nadreaktywności oskrzeli na histaminę oraz poprawę objawów nosowych [18]. Podobnie antagonistą receptora leukotrienowego MK-0679 powodował wzrost wartości FEV_1 w grupie AIA [17].

Nie wykazano przewagi terapeutycznej antagonisty receptora leukotrienowego w grupie chorych na astmę aspirynową w porównaniu z chorymi na astmę oskrzelową dobrze tolerującymi aspirynę [73, 76, 98, 132]. Natomiast uwagę zwraca fakt, że chorzy na astmę oskrzelową ze „zmutowanym” allelem C syntazy LTC_4 odpowiadają lepiej na leczenie antyleukotrienowe [3, 76, 104, 150].

Unikanie aspiryny i innych NSLPZ hamujących COX-1 (tab. 1) jest niezwykle ważne w zapobieganiu groźnym dla życia reakcjom poaspirynowym [137, 138]. Inhibitory COX-2 są dobrze tolerowane i stanowią ogromną szansę dla omawianych chorych [123, 134].

Istnieje również możliwość uzyskania tolerancji na aspirynę u chorych na AIA [56].

Tabela 1

Lista najważniejszych NSLPZ przeciwwskazanych w nadwrażliwości na aspirynę
(na podstawie 138. pozycji piśmiennictwa)

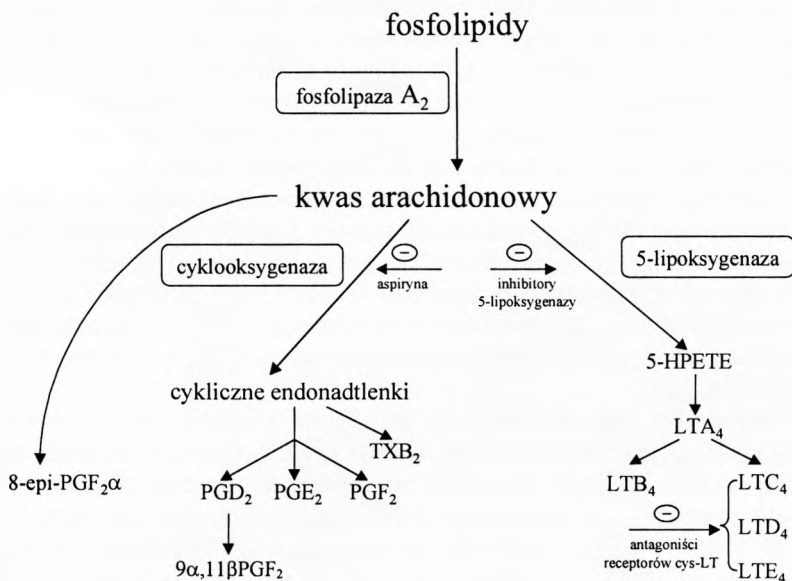
Nazwa rodzajowa	Nazwa handlowa
kwas acetylosalicylowy	Aspirin, Alkacyl, Alka-Seltzer, Anapiryna, Aspegic, Aspisol, Upsarin C
ibuprofen	Advil, Brufen, Dolgit, Ibuprofen, Mobilat,
naproksen	Anapran, Apranax, Naprosyn, Naproxen
ketoprofen	Profenid
fenoprofen	Fenoprofen
kwas tiaprofenowy	Surgam
indometacyna	Metindol, Indocid, Indomed
sulindak	Sulindac
tolmetyna	Tolmetin, Tolectin
diklofenak	Diclofenac, Voltaren, Feloran, Majamil, Naklofen, Rewodina
piroksykam	Feldene, Piroxicam
kwas mefenamowy	Mefacit, Ponstan, Ponstyl
metamizol	Analgin, Baralgin, Noramidopyrine, Novalgin
aminofenazon	Aminofenazon, Cofedon
fenylbutazon	Rheumopyrin, Butazolidin, Phenylbutazone
propyfenazon	Fenquil, Pabialgin, Saridon
oksyfenbutazon	Oxybutazone, Tanderil
klofezon	Perclusone

Mechanizmy patogenetyczne astmy aspirynowej w świetle przemian kwasu arachidonowego

Najbardziej popularną teorią powstawania astmy aspirynowej jest teoria cyklooksygenazowa [128], zgodnie z którą skurcz oskrzeli nie jest reakcją immunologiczną, ale jest związany z farmakologicznym hamowaniem przez aspirynę i inne NSLPZ aktywności COX, kluczowego enzymu w cyklu przemian kwasu arachidonowego.

Pod wpływem COX z kwasu arachidonowego wytwarzane są cykliczne endonadtlenki. W zależności od znajdujących się w poszczególnych tkankach izomeraz i re-

duktaz cykliczne endonadtlenki są przekształcane w prostaglandyny: D_2 (PGD_2), E_2 (PGE_2), $F_2\alpha$ ($PGF_2\alpha$) (rys. 1). Zarówno PGD_2 , jak i jej trwały metabolit $9\alpha,11\beta PGF_2$ oraz $PGF_2\alpha$ silnie kurczą oskrzela [114]. U chorych na astmę aspirynową zaobserwowano wzrost wydalania trwałego metabolitu PGD_2 z moczem po prowokacji aspiryną [11, 90], przy czym wzrost ten nie korelował w czasie ze wzrostem LTE_4 [11].



Rys. 1. Schemat przemiany kwasu arachidonowego do prostaglandyn i leukotrienów

Prostaglandyna E_2 rozszerza oskrzela, zapobiega degranulacji komórek tucznych, hamuje uwalnianie mediatorów chemicznych – w tym leukotrienów – ze stymulowanych komórek [97]. Można przypuszczać, że usunięcie PGE_2 ułatwia biosyntezę leukotrienów, prawdopodobnie przez odblokowanie mechanizmów hamujących ich syntezę [126, 127, 130]. Dzięki swoim właściwościom PGE_2 chroni oskrzela przed skurczem indukowanym aspiryną [92, 115, 131].

Pewnym przełomem w zrozumieniu mechanizmu działania aspiryny było odkrycie dwóch izoform cyklooksyzgenazy: COX-1 i COX-2, kodowanych przez dwa różne geny [117, 118]. COX-1 (postać konstytutywna) syntetyzowana jest w wielu tkankach oraz komórkach, prawdopodobnie odpowiada za fizjologiczną produkcję prostaglandyn. W stanie zapalnym dochodzi pod wpływem cytokin oraz czynników wzrostu do indukcji swojego genu dla syntezy COX-2 (postać indukowana) w jądrze komórkowym, a w konsekwencji do pojawienia się prozapalnych prostaglandyn [118]. NSLPZ wykazują różną siłę działania w stosunku do poszczególnych izoform COX, wśród których aspiryna blokuje nieodwracalnie COX-1 poprzez acetylację seryny. W rezultacie u chorych na astmę aspirynową dochodzi najprawdopodobniej do zablokowania syntezy PGE_2 i zniesienia jej hamującego wpływu na biosyntezę leukotrienów cysteinylowych (cys-LT) [126].

Kowalski i wsp. zaobserwowali, że komórki nabłonka z usuniętych chirurgicznie polipów nosa chorych na AIA produkują mniej PGE_2 niż komórki chorych na astmę oskrzelową dobrze tolerujących aspirynę [57]. Leukocyty krwi obwodowej chorych na astmę aspirynową generują więcej 15-HETE (kwas 15-hydroksyeikozatetraenowy) pod wpływem aspiryny, a mizoprostol (syntetyczny analog PGE_1) hamuje to uwalnianie [58].

Leukotrieny cysteinylowe to mieszanina pochodnych epoksydu kwasu arachidonowego sprzęgniętych z glutationem przez resztę siarkową cysteiny. Należy do nich LTC_4 , z którego po hydrolizie ostatniego aminokwasu – glutaminy – powstaje LTD_4 , a następnie po odszczepieniu glicyny – LTE_4 . Prekursorem cys-LT jest LTA_4 , produkt pośredni kwasu arachidonowego utlenionego przez enzym 5-lipoksygenazę (rys. 1). LTA_4 jest sprzęgany z glutationem przez specyficzny enzym zwany syntazą leukotrienu C_4 (LTC_4S), którego ekspresja ograniczona jest do kilku typów komórek, tj. mastocytów, eozynofików, makrofagów, płytek krwi i komórek nabłonka oddechowego oraz śródbłonka naczyń. Zaobserwowano zwiększoną ekspresję syntazy LTC_4 w eozynofilach obecnych w wycinkach z błony śluzowej oskrzeli chorych na astmę aspirynową [16, 103].

Cys-LT wiążą się ze swoistymi receptorami leukotrienowymi: CysLT_1 i CysLT_2 [42, 65], wywołując skurcz oskrzeli, wzrost wydzielania śluzu w drogach oddechowych oraz rozszerzenie i wzrost przepuszczalności naczyń, a także pobudzenie migracji eozynofików [84, 109].

Spośród mediatorów odpowiedzialnych za objawy kliniczne nadwrażliwości na aspirynę najważniejszą rolę przypisuje się właśnie cys-LT. Chorych na astmę aspirynową – w porównaniu z chorymi na astmę oskrzelową dobrze tolerującymi aspirynę oraz z osobami zdrowymi – charakteryzuje zwiększona podstawowa produkcja cys-LT [14, 15, 61, 78, 120]. Co więcej, obserwuje się zwiększone ich wydalanie z moczem po prowokacji aspiryną [14, 15, 61, 87], jak również po miejscowym podaniu aspiryny lizynowej na błonę śluzową oskrzeli [83]. Ostatnio wykazano, że również w kondensacie powietrza wydechowego u chorych na AIA podstawowe stężenie cys-LT jest większe niż u chorych na astmę dobrze tolerujących aspirynę [2].

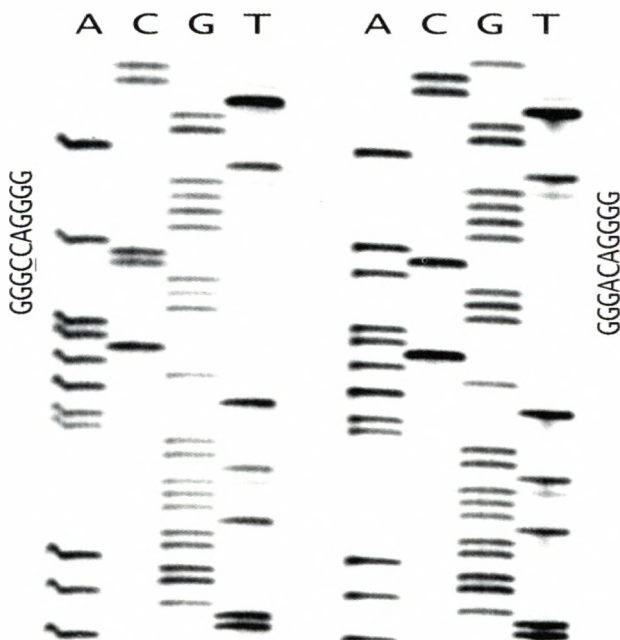
Istnieją przesłanki zarówno doświadczalne, jak i kliniczne, aby sądzić, że cys-LT oprócz znanego działania bronchospastycznego mogą również partycypować w rozwoju niedokrwienia mięśnia sercowego [43, 136, 151].

Mediatorami modyfikującymi procesy zapalenia, zależne od cys-LT, są **lipoksyny**. Powstają one wskutek sekwencyjnego utlenienia kwasu arachidonowego przez dwie lipoksygenazy (5-, 12- lub 15-lipoksygenazy). Lipoksyny są specyficznymi antagonistami czynnościowymi cys-LTs. Fenotyp astmy aspirynowej charakteryzuje zmniejszona biosynteza lipoksyn przez eozynofile krwi obwodowej i przez stymulowaną krew pełną w porównaniu z chorymi na astmę dobrze tolerującymi aspirynę [106, 107].

Zmienność genetyczna białek zaangażowanych w biosyntezę eikozanoidów

Zmienność genetyczna dwu spośród białek zaangażowanych w biosyntezę eikozanoidów na szlaku 5-LO wzbudziła szczególne zainteresowanie. W obrębie genu 5-LO stwierdzono polimorfizm regionu promotorowego, który polega na różnej liczbie powtórzeń 6-nukleotydowej sekwencji wiążącej czynnik transkrypcyjny SP-1 [21]. Polimorfizm ten nie wykazuje związku z astmą, lecz miałby się przyczyniać do szybszego rozwoju miażdżycy [24]. Inny dialleliczny polimorfizm ($_{-444}\text{A}/_{-444}\text{C}$) genu syntazy LTC_4

(rys. 2) jest spowodowany zamianą pojedynczego nukleotydu, znajdującego się w odległości 444 zasad przed miejscem startu translacji [106, 110]. Transwersja adeniny do cytozyny powoduje zmianę powinowactwa tego regionu promotorowego do czynników transkrypcyjnych i umiarkowany wzrost ekspresji enzymu u nosicieli allelu $_{444}C$.



Rys. 2. Porównanie sekwencji wariantu allelicznego $_{444}C$ z częstszym allelem $_{444}A$ genu LTC4S. Autoradiogram żelu, na którym rozdzielono produkty sekwencjonowania metodą terminacji dideoksynukleotydowej według M. Sanaka. Rysunek zamieszczono za zgodą autora ze 106. pozycji piśmiennictwa

Wykazano asocjację genetyczną między nosicielstwem allelu $_{444}C$ genu LTC4S a ciężką, steroidozależną astmą aspirynową. Nie ma natomiast takiego związku w łagodnie przebiegającej postaci astmy aspirynowej [106]. Badania Sayersa i wsp. wskazują na związek między nosicielstwem allelu $_{444}C$ genu LTC4S a niższymi wartościami FEV_1 u chorych na astmę [113]. Opisano również umiarkowany wzrost ekspresji mRNA dla LTC4S u nosicieli allelu $_{444}C$ [108]. Ponadto w grupie AIA nosiciele allelu $_{444}C$ genu LTC4S wydają więcej LTE_4 z moczem po teście prowokacyjnym z aspiryną [108]. W badaniach amerykańskich dotyczących polimorfizmu genu LTC4S chorych na astmę Van Sambeek i wsp. nie stwierdzili zwiększonej częstości allelu $_{444}C$ genu LTC4S wśród 61 chorych na astmę aspirynową [147]. Częstości alleliczne odbiegały jednak od wartości oczekiwanych, wyliczonych na podstawie prawa Hardy'ego i Weinberga [111]. W badaniu tym nie analizowano również cech klinicznych astmy, nie dokonywano więc porównania między stopniem ciężkości choroby a częstością nosicielstwa allelu $_{444}C$ genu w tej populacji.

Pokrzywkowo-obrzękowa postać nadwrażliwości na aspirynę

Obraz kliniczny i patomechanizm pokrzywki aspirynowej

Aspiryna oraz inne NSLPZ mogą wywoływać wysiew bąbli pokrzywkowych zlokalizowanych głównie na twarzy, owłosionej skórze głowy, szyi i górnej części klatki piersiowej, często połączony z obrzękiem naczyńioruchowym. Ten charakterystyczny typ pokrzywki (*aspirin-induced urticaria* – AIU) nazywany jest pokrzywkowo-obrzękową formą nadwrażliwości na aspirynę lub potocznie pokrzywką aspirynową. Występuje zwykle między 20. a 50. rokiem życia, częściej u kobiet. Pojawia się najczęściej po upływie 15–120 minut od momentu zażycia aspiryny, a niekiedy nawet dopiero po kilku godzinach. Objawy utrzymują się zwykle około godziny, a czasami nawet kilka dni [36, 39, 116]. Skórna postać nadwrażliwości na aspirynę występuje u około 0,3% ogólnej populacji, a aspiryna zajmuje pierwsze miejsce wśród innych NSLPZ odpowiedzialnych za wywołanie pokrzywki [124]. Niektóre dodatki do żywności mogą wywoływać lub nasilać pokrzywkę aspirynową [100]. Do najważniejszych należą: środki smakowe, konserwanty oraz barwniki azowe.

Okolo 20–40% chorych z przewlekłą pokrzywką idiopatyczną (*chronic idiopathic urticaria* – CIU) miewa wysiew bąbli po zażyciu aspiryny lub innych NSLPZ [36, 124]. Ten typ pokrzywki ma szczególnie uporczywy charakter, wielu chorych cierpi na spontaniczne lub prowokowane przez NSLPZ zmiany skórne, które są trudne do leczenia i utrzymują się latami [39, 47, 148].

Opisano pojedyncze przypadki rodzinnego występowania pokrzywki aspirynowej [82] oraz współistnienia oskrzelowej i skórnej postaci nadwrażliwości na aspirynę [39, 79]. Istnieją różne odmiany pokrzywki aspirynowej. Bardzo rzadko występująca postać pokrzywki, w której zmiany skórne i/lub obrzęk naczyńioruchowy pojawiają się wyłącznie po zażyciu aspiryny lub innych NSLPZ. Reakcja ta ma gwałtowny przebieg, często zagrażający życiu [36, 53, 124]. Druga odmiana to przewlekła pokrzywka indukowana lub nasilana przez aspirynę, w której zmiany pojawiają się nie tylko po NSLPZ, ale także spontanicznie, niezależnie od nich [124].

Nadwrażliwość na aspirynę (w tym postać skórna), według wytycznych Europejskiej Akademii Alergologii i Immunologii Klinicznej z 2001 roku, zaliczana jest do niealergiczych reakcji nadwrażliwości na aspirynę [49].

Patomechanizm pokrzywki aspirynowej jest ciągle niejasny. Od wielu lat ukazują się prace, w których sugeruje się podobny mechanizm skórnej i oskrzelowej postaci nadwrażliwości na aspirynę [35, 36]. Jednak do tej pory nie opublikowano przekonujących badań, które mogłyby potwierdzić tę hipotezę.

Przeprowadzone do tej pory badania nie potwierdziły podłoża immunologicznego związanego z IgE w patogenezie przewlekłej pokrzywki aspirynowej [59, 149]. Ta postać nadwrażliwości na aspirynę nie wiąże się również z niedoborem inhibitora dla C1 esteraazy w surowicy [40]. Sugeruje się natomiast aktywację skórnych komórek tucznych, a dowodem na to ma być wzrost aktywności chemotaktycznej neutrofilów w surowicy (wskaźnika degranulacji komórki tucznej) w czasie pokrzywki wywołanej aspiryną [37, 38].

Pierwsze obserwacje dotyczące bezpieczeństwa stosowania koksylbów u chorych na pokrzywkę aspirynową były obiecujące [25, 96, 112]. W większości jednak zostały

przeprowadzone u chorych, u których nadwrażliwość nie była potwierdzona testem prowokacyjnym z aspiryną. Ostatnie badania wykonane na dość dużej grupie chorych na pokrzywkę aspirynową, potwierdzoną testem prowokacyjnym z aspiryną, przeprowadzone metodą podwójnie ślepej próby z użyciem placebo, wykazały bezpieczeństwo stosowania koksylów w tej grupie chorych. Jednak do wyników tych należy podchodzić z dużą ostrożnością, ponieważ niektórzy klinicyści sugerują sporadyczne występowanie pokrzywki po doustnym podaniu selektywnych inhibitorów COX-2. W badaniach tych nie obserwowano wzrostu stężenia LTE₄ w moczu po prowokacji rofekoksylem i celekoksylem, natomiast wydalanie tego eikozanoidu z moczem wzrastało po prowokacji aspiryną [155]. Zwiększone wydalanie cys-LT z moczem obserwowano również w innych chorobach skóry, między innymi w zaostrzeniach atopowego zapalenia skóry [1].

Nie badano jeszcze wpływu polimorfizmu genetycznego enzymów biorących udział w przemianach kwasu arachidonowego na wystąpienie reakcji skórnej po aspirynie u chorych z przewlekłą pokrzywką idiopatyczną. Torres-Galvan i wsp. badali natomiast polimorfizm genetyczny syntazy LTC₄ u 58 chorych z obrzękiem naczynioruchowym okolicy oczodołowej indukowanym aspiryną. W grupie tej nie wykazano związku między wystąpieniem obrzęku naczynioruchowego a obecnością pozytywnego allelu „444C” [144].

Patogeneza przewlekłej pokrzywki idiopatycznej

Przewlekłą pokrzywkę idiopatyczną można rozpoznać na podstawie wysiewu bąbli pokrzywkowych, z towarzyszącym niekiedy obrzękiem naczynioruchowym i świądem skóry, utrzymującym się codziennie przez okres co najmniej 6 tygodni [9, 50, 51]. U niektórych chorych na przewlekłą pokrzywkę idiopatyczną aspiryna indukuje lub nasila zmiany skórne.

Patogeneza przewlekłej pokrzywki idiopatycznej pozostaje nadal niejasna [34]. Za pomocą dodatkowego testu śródskórnego z własną surowicą Grattan i wsp. (w 1986 r.) wykazali istnienie „czynnika” odpowiedzialnego za degranulację mastocytów skórnych i uwalnianie histaminy [32]. Kilka lat później badacze brytyjscy pod kierunkiem Greavesa zidentyfikowali „czynniki” wywołujący dodatnie odczyny skórne jako auto-przeciwciała klasy IgG [44].

U niektórych chorych istnieją dowody na autoimmunologiczne tło tej choroby [6, 27, 28, 33, 44, 54, 86, 101]. U około 30–50% chorych z tą odmianą pokrzywki obecne są autoprzeciwciała klasy IgG przeciwko podjednostce α receptora dla IgE o wysokim powinowactwie (Fc ϵ R1 α) na mastocytach lub rzadziej przeciwciała klasy IgG przeciwko samej IgE [28, 86, 101]. Ich obecność można zwykle potwierdzić *in vivo* testem autologicznym śródskórnym z własną surowicą (*autologous serum skin test* – ASST); czułość testu wynosi około 69%, specyficzność około 71% [102]. Co ciekawe, również u niektórych chorych z przewlekłą pokrzywką indukowaną aspiryną stwierdzono dodatnie testy śródskórne z własną surowicą [5]. Jednak ich związek z obecnością tego rodzaju autoprzeciwciał nie jest jasny.

Różne formy nadwrażliwości na aspirynę

Pokrzywka jest obok astmy aspirynowej najważniejszą formą nadwrażliwości na aspirynę. Ich współistnienie jest możliwe, jednak nie jest częste. Obok pokrzywki i astmy aspirynowej wyróżnia się także inne formy nadwrażliwości na aspirynę (tab. 2) [122].

Tabela 2

Klasyfikacja reakcji na aspirynę i inne NSLPZ (wg 122. pozycji piśmiennictwa)

Opis reakcji	Manifestacja kliniczna choroby podstawowej	Reakcje krzyżowe	Terminologia
nieżyt błony śluzowej nosa i astma indukowane przez NSLPZ	astma/polipy nosa/zapalenie zatok	obecne	nietolerancja nadwrażliwość objawy indukowane aspiryną
pokrzywka/obrzęk naczynioruchowy indukowane przez NSLPZ	przewlekła pokrzywka idiopatyczna	obecne	ostra/przewlekła pokrzywka obrzęk naczynioruchowy
pokrzywka/obrzęk naczynioruchowy indukowane przez jeden lek	Ø	brak	ostra pokrzywka/obrzęk naczynioruchowy
pokrzywka/obrzęk naczynioruchowy indukowane przez wiele leków	Ø	obecne	ostra pokrzywka
reakcja anafilaktyczna indukowana przez jeden lek	Ø	brak	reakcja anafilaktoidalna
mieszane reakcje indukowane przez jeden lub wiele NSLPZ	astma/nieżyt błony śluzowej nosa pokrzywka lub brak	brak/obecne	astma i pokrzywka

ZAŁOŻENIA I CEL PRACY

U niektórych chorych na przewlekłą pokrzywkę idiopatyczną występują objawy nadwrażliwości na aspirynę i inne NSLPZ hamujące cyklooksygenazę [36, 124]. W celu bliższego poznania patomechanizmów skórnej postaci nadwrażliwości na aspirynę postanowiono prześledzić zarówno zaburzenia przemiany eikozanoidów szlaku cyklooksygenazy, jak i 5-lipoksygenazy, w oskrzelowej i skórnej postaci nadwrażliwości na aspirynę. Ponadto starano się przybliżyć odpowiedź na pytanie o udział komórek tucznych w skórnej postaci nadwrażliwości na aspirynę.

Zasadnicze pytanie, na które szukano odpowiedzi, było następujące:

Czy istnieje wspólny mechanizm, na drodze którego NSLPZ wywołują reakcje nadwrażliwości, manifestujące się bądź to jako astma oskrzelowa, bądź pokrzywka?

Celem przeprowadzonych badań było uzyskanie odpowiedzi na następujące pytania:

1. Czy chorych z pokrzywką aspirynową charakteryzuje podobna nadprodukcja leukotrienów cysteinylowych jak chorych na astmę aspirynową?
2. Czy stężenie trwałego metabolitu PGD_2 ($9\alpha,11\beta\text{PGF}_2$) w surowicy jest podobne po prowokacji aspiryną w obu postaciach nadwrażliwości na aspirynę?
3. Jakie jest podstawowe stężenie tryptazy w surowicy u chorych na pokrzywkę aspirynową w porównaniu z chorymi na przewlekłą pokrzywkę idiopatyczną dobrze tolerującymi aspirynę?
4. Czy istnieje asocjacja genetyczna pomiędzy nosicielstwem allelu ^{-444}C syntazy leukotrienu C_4 a skórną postacią nadwrażliwości na aspirynę?

Uzasadnienie podjęcia decyzji badania polimorfizmu genetycznego syntazy LTC_4 w pokrzywce aspirynowej było następujące: 1) biosynteza leukotrienów cysteinylowych kontrolowana jest przez LTC4S [63, 64], 2) w czasie napadów astmy indukowanych aspiryną obserwuje się wzrost wydalania leukotrienów cysteinylowych z moczem [14, 15, 61, 87, 129], 3) w polskiej populacji częstość wariantu allelicznego ^{-444}C genu LTC4S jest zwiększona w ciężkiej postaci astmy aspirynowej [106].

MATERIAŁ I METODY

Zasady kwalifikacji chorych do badania

Na 4 tygodnie przed rozpoczęciem właściwych badań spośród chorych na przewlekłą pokrzywkę idiopatyczną wybrano tych, którzy byli w okresie remisji choroby, tzn. nie mieli żadnych objawów skórnych, natomiast mogli przyjmować leki. Wszyscy chorzy podawali w wywiadach występowanie pokrzywki po zażyciu aspiryny lub innych NSLPZ, jednak nigdy nie wykonywano u nich testów prowokacyjnych z aspiryną. Grupa ta liczyła 80 osób. Spośród 80 chorych na przewlekłą pokrzywkę idiopatyczną 46 nie zażywało żadnych leków, 21 przyjmowało doustne antyhistaminiki, 13 – doustne leki antyleukotrienowe.

Po 2 tygodniach obserwacji chorym odstawiono wszystkie leki i włączano dietę eliminacyjną, pozbawioną naturalnych salicylanów i substancji zdolnych do wywołania z nimi reakcji krzyżowych [100].

U 6 chorych po odstawieniu leków antyhistaminowych i włączeniu diety eliminacyjnej wystąpiła pokrzywka. Osoby te nie wzięły udziału w dalszych badaniach.

Przed przystąpieniem do właściwych badań u wszystkich chorych wykluczono inne przyczyny przewlekłej pokrzywki zgodnie z obowiązującymi wytycznymi [50].

Osoby badane

Badanie zostało przeprowadzone u 74 chorych (55 kobiet i 19 mężczyzn, w wieku 32–51 lat, średnia wieku 44,5 roku) na przewlekłą pokrzywkę idiopatyczną. Wszyscy chorzy podawali w wywiadzie występowanie zmian skórnych po zażyciu aspiryny lub innych NSLPZ, bez objawów astmy, polipów nosa czy reakcji anafilaktycznej. Czas trwania choroby wynosił od 6 miesięcy do 6 lat, średnio 2 lata.

Rozpoznanie przewlekłej pokrzywki idiopatycznej ustalono na podstawie występowania pokrzywki, z towarzyszącym niekiedy obrzękiem naczynioruchowym, codziennie – przez okres co najmniej 6 tygodni [9, 50, 51].

Grupę kontrolną stanowiło 48 zdrowych ochotników (35 kobiet, 13 mężczyzn, w wieku 30–48 lat, średnia wieku 43 lata), rekrutujących się spośród pracowników

II Katedry Chorób Wewnętrznych CM UJ w Krakowie. Były to osoby bez dodatniego wywiadu w kierunku pokrzywki, astmy czy chorób atopowych. Rutynowe badania lekarskie nie wykazały u nich odchyśleń od normy. Grupa ta służyła do porównania podstawowego wydalania LTE_4 z moczem oraz podstawowego stężenia $9\alpha,11\beta\text{PGF}_2$ i tryptazy w surowicy. Przez przynajmniej 14 dni przed rozpoczęciem badań zdrowi nie zażywali żadnych leków, w tym również aspiryny i innych NSLPZ hamujących cyklooksygenazę.

Wszystkie osoby, które brały udział w badaniach, wyraziły pisemną, świadomą zgodę na badania i zapoznały się z ich celem i założeniami. Projekt badania został zatwierdzony przez Komisję Bioetyczną Uniwersytetu Jagiellońskiego; nr zgody: KBET/240/B/2002 i KBET/411/B/2003.

Metody badania

Badanie przeprowadzono metodą pojedynczo ślepej próby z użyciem placebo. Doustny test prowokacyjny z aspiryną wykonano w czasie 2 kolejnych dni. W pierwszym dniu badania chorzy otrzymywali doustnie 3 kapsułki placebo co godzinę. W drugim dniu badania podawano im doustnie aspirynę we wzrastających dawkach 71, 117 i 312 mg, również co godzinę. Prowokację aspiryną przerywano w chwili, gdy wystąpiły jakiekolwiek objawy ze strony skóry i/lub innych narządów (skurcz oskrzeli, wydzielina z nosa, łzawienie) lub w godzinę po podaniu maksymalnej przewidzianej dla testu dawki aspiryny (dawka kumulacyjna 500 mg).

Pomiary wartości FEV_1 oraz nasilenie zmian skórnych mierzono wyjściowo tuż przed rozpoczęciem testu prowokacyjnego z aspiryną (wartość podstawowa), a następnie co 30 minut w czasie testu i przez 6 godzin od momentu zakończenia próby z aspiryną czy placebo.

U chorych z dodatnią reakcją skórą na aspirynę pobrano mocz na oznaczenie LTE_4 przed rozpoczęciem testu prowokacyjnego z aspiryną (wartość podstawowa), w czasie wystąpienia pierwszych objawów ze strony skóry i/lub innych narządów (czas 0), a następnie w 2. i 4. godzinie po wystąpieniu reakcji klinicznej. U chorych z ujemnym testem prowokacyjnym z aspiryną, u których nie wystąpiły żadne objawy kliniczne w godzinę po ostatniej dawce aspiryny, mocz zbierany był na początku badania, w godzinę po ostatniej dawce aspiryny (czas 0) oraz w 2 i 4 godziny później.

Próbki krwi do oznaczenia stężenia trwałego metabolitu PGD_2 ($9\alpha,11\beta\text{PGF}_2$) były pobierane przed rozpoczęciem testu prowokacyjnego z aspiryną (wartość podstawowa), w czasie wystąpienia objawów skórnych (czas 0) i po 60, 120 oraz 240 minutach od wystąpienia reakcji klinicznej. U chorych, u których nie obserwowano objawów ze strony skóry, próbki krwi pobierano przed rozpoczęciem testu prowokacyjnego z aspiryną (wartość podstawowa), w godzinę po ostatniej dawce aspiryny (czas 0), a następnie 60, 120 i 240 minut później.

U 36 chorych (18 z wynikiem dodatnim i 18 z wynikiem ujemnym testu z aspiryną) i 48 zdrowych ochotników oznaczono podstawowe stężenie tryptazy w surowicy.

Natomiast próbki krwi do izolacji DNA pobrano u 71 chorych (29 reagujących pozytywnie i 42 reagujących negatywnie na doustną prowokację z aspiryną). Trzech chorych nie wyraziło zgody na badania genetyczne.

Wszystkim chorym wykonano testy skórne: 1) z aspiryną lizynową, 2) z własną surowicą.

Doustny test prowokacyjny z aspiryną

Test doustny z aspiryną przeprowadzono według zmodyfikowanej metody opisanej przez Niżankowską i wsp. za pomocą pojedynczo ślepej próby z użyciem placebo, w ciągu 2 kolejnych dni [87]. W pierwszym dniu badania chorzy otrzymywali doustnie placebo, 3 kapsułki co godzinę. W drugim dniu badania poszczególne wzrastające dawki aspiryny 71, 117 i 312 mg (do osiągnięcia kumulacyjnej dawki 500 mg) podawane były podobnie jak placebo, również co godzinę (tab. 3). Aspiryna i placebo miały postać identycznych kapsulek.

Próba doustna z aspiryną była wykonywana tylko u tych chorych, którzy nie mieli żadnych objawów skórnych i aktualne $FEV_1 > 80\%$ w stosunku do wartości należnej. FEV_1 mierzono, a objawy ze strony skóry oceniano co 30 minut w czasie trwania testów i przez 6 godzin po ich zakończeniu. Prowokację przerywano w chwili wystąpienia jakichkolwiek objawów ze strony skóry i/lub innych narządów (np. duszność, nieżyt nosa, łzawienie), a także gdy FEV_1 obniżyło się o 20% lub więcej w stosunku do wartości wyjściowej (próba dodatnia). Dawkę kumulacyjną aspiryny, która powodowała odpowiedź ze strony skóry w postaci pokrzywki, wykorzystano do dalszych obliczeń statystycznych jako tzw. dawkę prowokacyjną aspiryny. Natomiast w przypadku osób, które nie miały żadnych reakcji ze strony narządów w godzinę po podaniu ostatniej dawki aspiryny przewidzianej w teście (500 mg), próbę uznawano za ujemną.

Tabela 3

Zmodyfikowana metoda doustnego testu prowokacyjnego z aspiryną

Godzina	1. dzień	2. dzień dawka aspiryny (mg)	Dawka kumulacyjna aspiryny (mg)
9.00	placebo	71	71
10.00	placebo	117	188
11.00	placebo	312	500

Ocena stopnia ciężkości zmian skórnych

Zmiany skórne oceniano na podstawie zmodyfikowanej skali PASI (*Psoriasis Area and Severity Index*), w której złuszczenie zastąpiono przez świąd (tab. 4) [29]. Stopień nasilenia świądu, rumienia i bąbla oceniano w skali 0–4, natomiast powierzchnię zaję-

tej skóry – w skali 0–6. Zgodnie z zasadami skali PASI wymienione objawy odnoszo-
no do poszczególnych części ciała: głowy, tułowia, kończyn górnych i dolnych, a na-
stępnie mnożono przez współczynnik powierzchni. Wskaźnik równy 10 lub przekra-
czający tę wartość ($PASI \geq 10$) przyjęto jako duży (ciężki) stopień nasilenia zmian
skórnych.

Tabela 4

Schemat zmodyfikowanej skali PASI [29]

	Stopień nasilenia						
Punktacja	0	1	2	3	4	5	6
świąd	brak	nieznaczny	umiarkowany	ciężki	bardzo ciężki	–	–
rumień	brak	nieznaczny	umiarkowany	ciężki	bardzo ciężki	–	–
bąbel	brak	nieznaczny	umiarkowany	ciężki	bardzo ciężki	–	–
powierzchnia (%)	0	<10	10–30	30–50	50–70	70–90	90–100

Głowa (G)

punktacja		
	świąd	<input type="checkbox"/>
	rumień	<input type="checkbox"/>
	bąbel	<input type="checkbox"/>
	suma	<input type="text"/> <input type="text"/>
	x powierzchnia	<input type="text"/>
	=	<input type="text"/> <input type="text"/>
	x 0,1 =	<input type="text"/> <input type="text"/> <input type="text"/>

Tułów (T)

punktacja		
	świąd	<input type="checkbox"/>
	rumień	<input type="checkbox"/>
	bąbel	<input type="checkbox"/>
	suma	<input type="text"/> <input type="text"/>
	x powierzchnia	<input type="text"/>
	=	<input type="text"/> <input type="text"/>
	x 0,3 =	<input type="text"/> <input type="text"/> <input type="text"/>

Kończyny dolne (KD)

punktacja		
	świąd	<input type="checkbox"/>
	rumień	<input type="checkbox"/>
	bąbel	<input type="checkbox"/>
	suma	<input type="text"/> <input type="text"/>
	x powierzchnia	<input type="text"/>
	=	<input type="text"/> <input type="text"/>
	x 0,2 =	<input type="text"/> <input type="text"/> <input type="text"/>

Kończyny górne (KG)

punktacja		
	świąd	<input type="checkbox"/>
	rumień	<input type="checkbox"/>
	bąbel	<input type="checkbox"/>
	suma	<input type="text"/> <input type="text"/>
	x powierzchnia	<input type="text"/>
	=	<input type="text"/> <input type="text"/>
	x 0,4 =	<input type="text"/> <input type="text"/> <input type="text"/>

wskaźnik ciężkości = /G/□□ + /T/□□□ + /KG/□□□ + /KD/□□□ = □□□

zakres wartości: 0,00–72,00 (0,00 – bez zmian skórnych)

Pomiar natężonej objętości wydechowej pierwszosekundowej (FEV₁)

Pomiary FEV₁ wykonano spirometrem komputerowym – pneumotachografem (Pneumoscreen, E. Jaeger, Niemcy). Wartości należne FEV₁ dla poszczególnych badanych obliczono, uwzględniając ich płeć, wiek i wzrost z nomogramów opracowanych na spotkaniu roboczym Europejskiej Wspólnoty Węgla i Stali i opublikowanych w czasopiśmie „Bulletin Europeen de Physiopathologie Respiratoire” (1983, 19, supl. 5).

Oznaczenie stężenia LTE₄ w moczu

Pierwsza próbka moczu do oznaczenia LTE₄ (wartość podstawowa) pochodziła z 2-godzinnej zbiórki moczu. Chorzy oddawali mocz o tej samej godzinie rano w celu uniknięcia ewentualnego wpływu pory dnia na badany parametr. Kolejna próbka moczu (czas 0) została pobrana w chwili wystąpienia reakcji skórnej, a w przypadku braku reakcji na aspirynę – w godzinę po ostatniej dawce aspiryny. Następne próbki pochodziły z 2-godzinnej zbiórki moczu, prowadzonej przez 4 godziny od momentu zakończenia testu prowokacyjnego. Mocz był odwirowywany przy obrotach 1000 x g przez 10 minut w temperaturze +4°C. Po odwirowaniu supernatant przechowywano w temperaturze –80°C. Stężenie LTE₄ oznaczano techniką immunoenzymatyczną ELISA (zestaw firmy Cayman Chemical, Ann Arbor, Mich, USA) [62].

Stężenie LTE₄ w moczu zostało wyrażone w pikogramach na miligram kreatyniny (pg/mg kreatyniny).

Oznaczenie stężenia trwałego metabolitu PGD₂ (9α,11βPGF₂) w surowicy

Stężenie 9α,11βPGF₂ w surowicy było oznaczone metodą chromatografii gazowej i spektrometrii mas, techniką ujemnej jonizacji chemicznej (GC-NICI-MS, Hewlett Packard, Palo Alto, CA, USA). Po ekstrakcji próbki przy użyciu Sep-Paka C₁₈ i derywatyzacji 9α,11βPGF₂ do pentafluorobenzyłowego estru próbkę oczyszczano metodą chromatografii cienkowarstwowej (TLC). Oczyszczona substancja ulegała derywatyzacji do trimetylosililowego eteru. Tak przygotowana próbka była następnie analizowana za pomocą chromatografii gazowej i spektrometrii mas [88].

Oznaczenie stężenia tryptazy w surowicy

Stężenie tryptazy w surowicy było oznaczone metodą immunofluorescencji enzymatycznej (Uni-CAP 100 Tryptase system; Pharmacia Upjohn Diagnostics, Uppsala, Szwecja) i zostało wyrażone w mikrogramach na litr (μg/l).

Genotypowanie polimorfizmu genu syntazy LTC₄

Polimorfizm pojedynczego nukleotydu (*single nucleotide polymorphism* – SNP) syntazy LTC₄ znajdujący się w odległości 444 zasad przed miejscem startu translacji genotypowano w sposób opisany przez Sanaka [106, 110].

Test skórny z aspiryną

Test wykonano według własnej modyfikacji, używając aspiryny lizynowej (Aspi-sol; Bayer AG, Leverkusen, Niemcy). W testach punktowych typu „prick” stosowano następujące stężenia kwasu acetylosalicylowego: 0,001%; 0,01%; 0,1%; 1,0%. Jeżeli reakcja ze strony skóry była ujemna, wówczas podawano kwas acetylosalicylowy śródskórnie we wzrastających stężeniach: 0,0001%; 0,001%; 0,01%; 0,1%. Równocześnie wykonano kontrolę z solą fizjologiczną i histaminą.

Test śródskórny z własną surowicą (autologiczny)

Test autologiczny wykonano metodą opracowaną przez Greavesa [33]. Chorem pobierano 5 ml krwi żyłnej, którą pozostawiano przez 30 minut w temperaturze pokojowej. Następnie próbkę krwi wirowano przez 15 minut z prędkością 3000 obrotów na minutę. Własną surowicę chorego w ilości 0,05 ml natychmiast po odwirowaniu wstrzykiwano śródskórnie w wyprostną powierzchnię przedramienia. Równocześnie wykonywano kontrolę ujemną, wstrzykując śródskórnie 0,05 ml soli fizjologicznej. Dodatkowo wykonano test punktowy z histaminą. Średnicę bąbla oceniano po 15, 30 i 60 minutach. Za dodatni wynik testu uznawano średnicę bąbla powstałego w miejscu wstrzyknięcia surowicy większą o 1,5 mm od średnicy bąbla powstałego w miejscu wstrzyknięcia soli fizjologicznej.

Opracowanie statystyczne

Analizę statystyczną przeprowadzono za pomocą programu Statistica™ 5.5 PL firmy StatSoft. Charakterystykę opisową badanych grup oparto na statystykach porządkowych: medianie jako mierze tendencji centralnej oraz dolnego i górnego kwartyła, których odległość jest porządkową miarą rozrzutu.

Wpływ zmiennych jakościowych (czynniki) i ilościowych (zmiennych towarzyszących) z uwzględnieniem ich interakcji na zmienną ilościową (odpowiedź) w warun-

kach eksperymentu kontrolowanego badano za pomocą ogólnego modelu liniowego GLM (General Linear Model) obejmującego jako przypadki, szczególnie analizę wariancji (ANOVA) i analizę kowariancji (ANCOVA).

Kluczowe w tej analizie założenie jednorodności wariancji w grupach weryfikowano testem Bartletta. W przypadku niejednorodności wariancji dokonywano transformacji logarytmicznej stabilizującej wariancję.

Do porównań wielokrotnych użyto testu *post hoc* Tukeya, a dla grup o różnej liczebności – wariantu Spjotvolla–Stoline’a. Związki pomiędzy zmiennymi jakościowymi badano za pomocą testu χ^2 Pearsona. Dla zmiennych dychotomicznych użyto ponadto testu dokładnego Fishera. Poziom istotności testów ustalono jako $\alpha = 0,05$.

WYNIKI

Reakcja kliniczna na doustną prowokację aspiryną

U żadnego z 74 chorych nie obserwowano objawów klinicznych zarówno ze strony skóry, jak i innych narządów podczas prowokacji placebo. Spośród wszystkich chorych, u których wykonano doustny test prowokacyjny z aspiryną, 30 osób (40,5%) zareagowało dodatnio, tzn. wystąpiła u nich pokrzywka i/lub obrzęk naczynioruchowy. Pozwoliło to podzielić wszystkich chorych na dwie grupy: 1) z dodatnim wynikiem testu prowokacyjnego z aspiryną, tj. z pokrzywką aspirynową oraz 2) z ujemnym wynikiem testu prowokacyjnego z aspiryną. Nie było różnic istotnych statystycznie co do płci, wieku, czasu trwania pokrzywki i atopii między chorymi, którzy zareagowali dodatnio na aspirynę (n = 30), a chorymi, u których nie wystąpiła żadna reakcja kliniczna (n = 44) (tab. 5).

Tabela 5

Charakterystyka badanych grup (mediana 25–75%)

	Chorzy		Zdrowi (n = 48)
	Dodatnia próba aspirynowa (n = 30)	Ujemna próba aspirynowa (n = 44)	
płeć (kobieta/mężczyzna)	23/7	32/12	35/13
wiek (lata)	48 (34–52)	42 (28–49)	43 (30–48)
całkowite IgE w surowicy (IU/ml)	132,5 (64,6–233)	93,0 (31,4–324,5)	–
czas trwania pokrzywki (lata)	2 (1–5)	2 (0,5–6)	–
stężenie LTE ₄ w moczu (pg/mg kreatyniny)	535,5 (270,0–1026)	285,5 (178,0–390,0)	110,0 (58,0–152,0)
stężenie 9α,11βPGF ₂ w surowicy (pg/ml)	4,85 (3,80–6,10)	4,25 (3,05–6,04)	4,55 (2,9–6,0)
stężenie tryptazy w surowicy (µg/l)	7,8 (6,13–10,9) (n = 18)	4,98 (1,97–7,65) (n = 18)	4,47 (3,51–5,65)

Objawy ze strony skóry w grupie AIU wystąpiły po podaniu 71 mg aspiryny u 1 chorego, u 9 chorych po otrzymaniu 188 mg, a u pozostałych 20 chorych po podaniu całkowitej dawki kumulacyjnej aspiryny, tj. 500 mg. Duży i ciężki stopień nasilenia zmian skórnych PASI ≥ 10 obserwowano u 11 chorych na pokrzywkę aspirynową, u pozostałych 19 osób zmiany skórne oceniono w skali PASI jako lekkie lub średnie (PASI < 10).

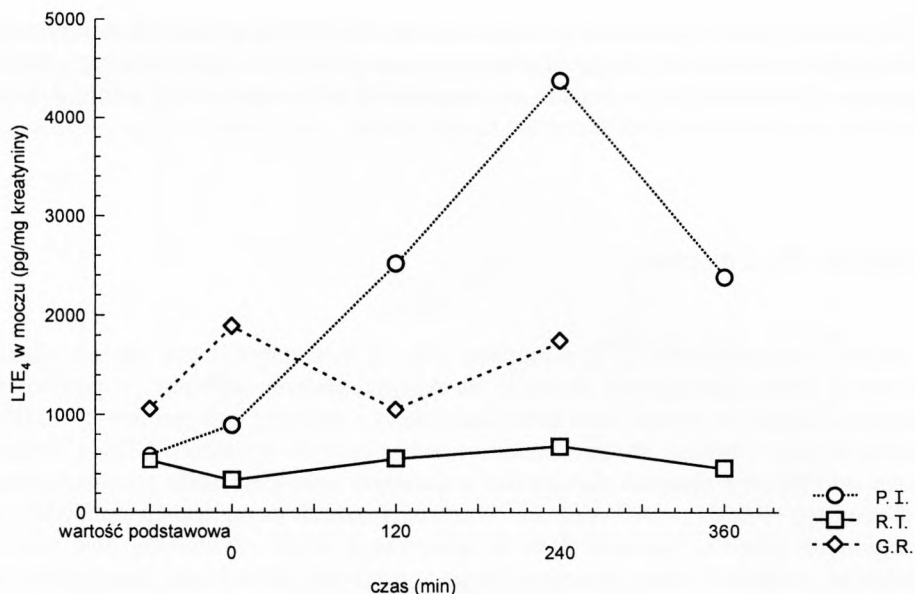
Na zdjęciu (rys. 3) przedstawiono 27-letniego mężczyznę (D.G.), u którego wystąpiła pokrzywka po prowokacji aspiryną. Pokrzywka została potwierdzona w badaniu histopatologicznym skóry [154]. Dawka prowokacyjna aspiryny u tego chorego wynosiła 188 mg. Maksymalne nasilenie zmian w skali PASI oceniono na 38,4.



Rys. 3. Chory D.G., 27-letni mężczyzna z objawami pokrzywki indukowanej aspiryną

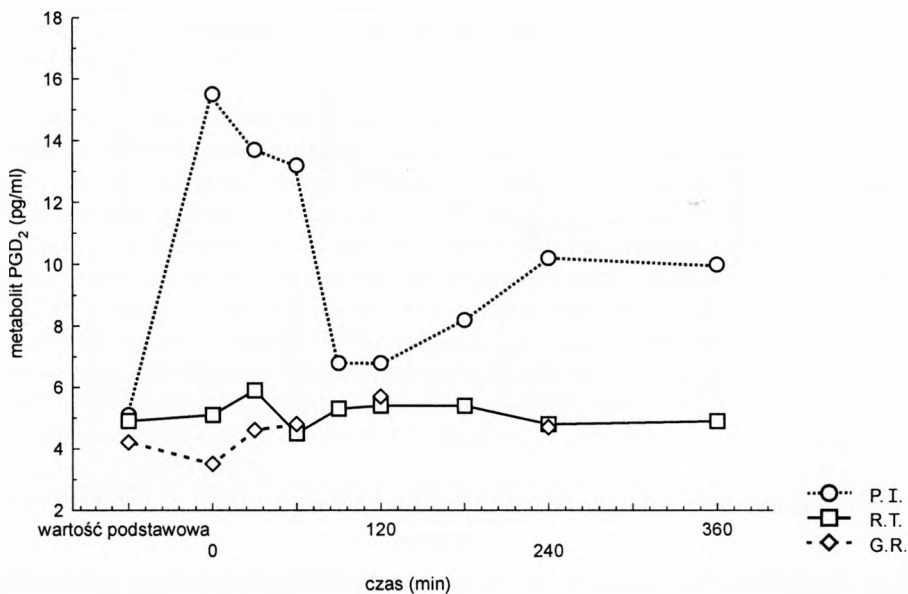
Spośród 30 chorych, u których wynik doustnego testu prowokacyjnego z aspiryną był dodatni, 27 osób nie zgłaszało żadnych objawów ze strony innych narządów oprócz skóry i przez cały czas trwania badania wartości FEV_1 były u nich prawidłowe. Natomiast u trzech chorych (u jednego po 188 mg, a u dwóch po 500 mg aspiryny) wystąpiło łzawienie, wodnista wydzielina z nosa i duszność. Obserwowano u nich spadek wartości FEV_1 o 20% lub więcej w stosunku do wartości wyjściowych. W badaniu przedmiotowym nad obu polami płucnymi wydech był przedłużony oraz słyszalne były świsty. Objawy oskrzelowe poprzedziły rozwój zmian skórnych.

Podstawowe wydalanie LTE_4 z moczem u 3 chorych, którzy ujawnili podwójną reakcję po aspirynie, tj. oskrzelową i skórą, było następujące: 592, 538 i 1095 pg/mg kreatyniny. Natomiast najwyższe wartości LTE_4 w moczu po prowokacji aspiryną wynosiły odpowiednio: 4375, 676 i 1819 pg/mg kreatyniny (rys. 4).



Rys. 4. Wydalanie LTE₄ z moczem, podstawowe i po prowokacji aspiryną, u 3 chorych (P.I., R.T., G.R.) z podwójną, oskrzelową i skórą postacią nadwrażliwości na aspirynę

Podstawowe stężenie 9 α ,11 β PGF₂ w surowicy u tych 3 chorych było następujące: 5,1, 4,9 i 4,2 pg/ml, najwyższe wartości po prowokacji aspiryną wynosiły odpowiednio: 15,5, 5,9 i 5,7 pg/ml (rys. 5).

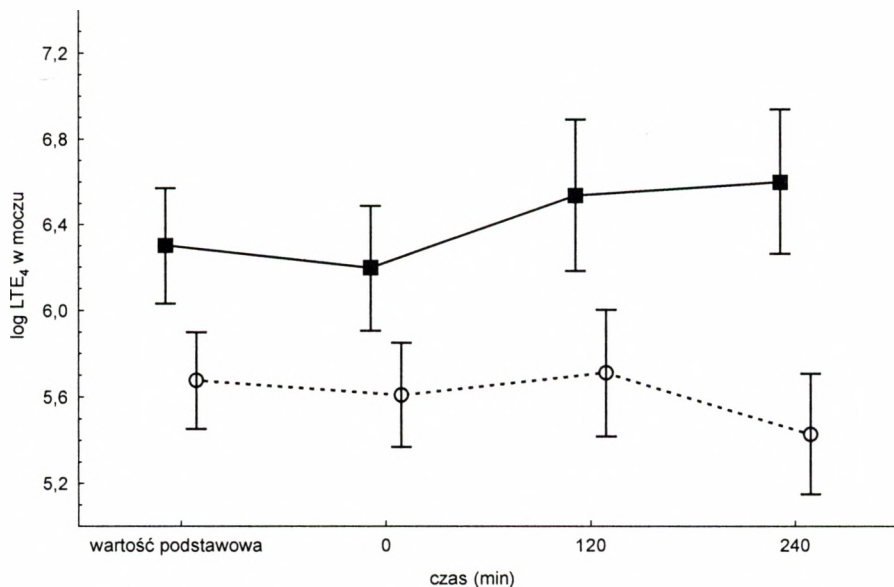


Rys. 5. Stężenie trwałego metabolitu PGD₂ w surowicy, podstawowe i po prowokacji aspiryną, u 3 chorych (P.I., R.T., G.R.) z podwójną, oskrzelową i skórą postacią nadwrażliwości na aspirynę

Chorzy reagujący oskrzelowo i skórnie na aspirynę zostali zakwalifikowani do grupy chorych na przewlekłą pokrzywkę idiopatyczną z dodatnim wynikiem testu prowokacyjnego. Dalsza analiza wykazała, że ewentualne odrzucenie ich z grupy AIU nie wpływało na jakościowe wnioskowanie statystyczne.

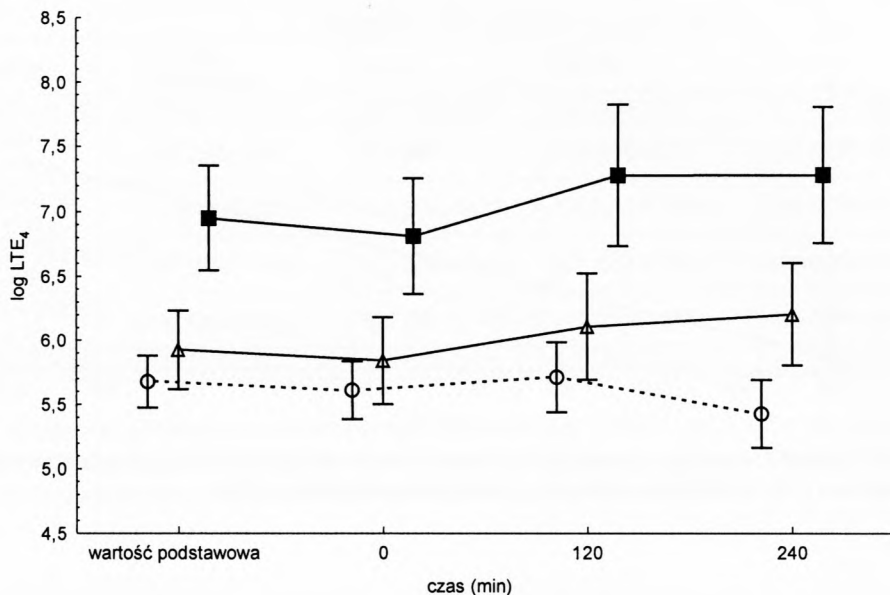
Wydalanie LTE_4 z moczem

Podstawowe wydalenie LTE_4 z moczem (tab. 5) było statystycznie istotnie większe u chorych, którzy zareagowali dodatnio na doustne podanie aspiryny, w porównaniu z chorymi, u których wynik testu prowokacyjnego z aspiryną był ujemny ($p = 0,005$). Zaobserwowano również istotne różnice w podstawowym wydalaniu LTE_4 z moczem między zdrowymi a chorymi z dodatnim i ujemnym wynikiem testu prowokacyjnego z aspiryną ($p = 0,0001$; ANOVA). We wszystkich trzech przypadkach pomiędzy poszczególnymi grupami istotność była na poziomie $p < 0,05$. Tylko w grupie chorych z dodatnim wynikiem testu prowokacyjnego z aspiryną stwierdzono zwiększone wydalenie LTE_4 z moczem w 2. (tendencja, $p = 0,07$) i 4. (istotne statystycznie, $p = 0,03$) godzinie od chwili zakończenia próby, w porównaniu z wartościami podstawowymi. W grupie chorych z ujemnym wynikiem testu prowokacyjnego z aspiryną nie tylko nie obserwowano wzrostu, lecz wystąpił istotny spadek stężenia LTE_4 w moczu w 4. godzinie obserwacji w porównaniu z wartością podstawową; $p = 0,03$ (rys. 6).



Rys. 6. Wydalenie LTE_4 z moczem, podstawowe i po prowokacji aspiryną, w grupie chorych na pokrzywkę aspirynową (■ – AIU) i w grupie chorych na przewlekłą pokrzywkę idiopatyczną z ujemnym wynikiem testu prowokacyjnego z aspiryną (○ – CIU)

Podstawowe wydalanie LTE_4 z moczem było istotnie większe u chorych z pokrzywką aspirynową potwierdzoną testem prowokacyjnym i $\text{PASI} \geq 10$ w porównaniu z chorymi z $\text{PASI} < 10$, ($p = 0,002$) i chorymi z ujemnym wynikiem testu prowokacyjnego z aspiryną ($p < 0,001$) (rys. 7).

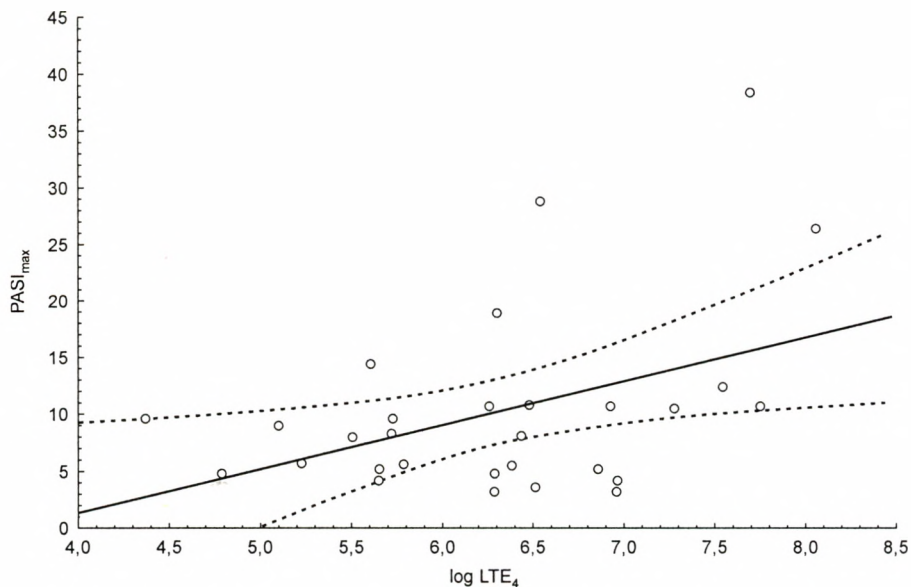


Rys. 7. Wydalanie LTE_4 z moczem, podstawowe i po prowokacji aspiryną, w grupie chorych na pokrzywkę aspirynową (AIU) w zależności od wartości PASI (■ – $\text{PASI} \geq 10$, Δ – $\text{PASI} < 10$) oraz u chorych na przewlekłą pokrzywkę idiopatyczną z ujemnym wynikiem testu prowokacyjnego z aspiryną (○ – CIU)

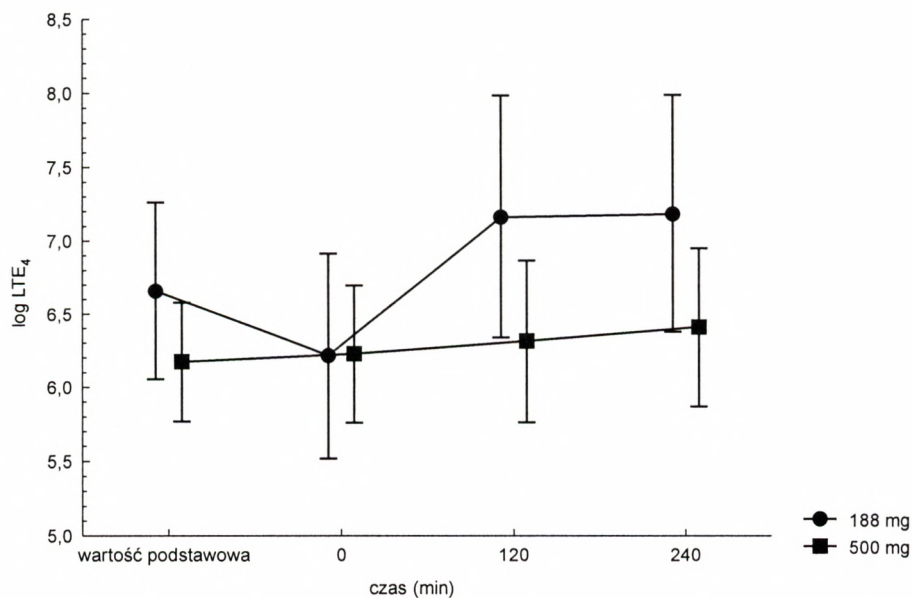
U chorych z pokrzywką aspirynową, potwierdzoną testem prowokacyjnym, zaobserwowano słabą, dodatnią korelację między podstawowym stężeniem LTE_4 w moczu a maksymalnym nasileniem zmian skórnych (PASI_{max}) po prowokacji aspiryną (współczynnik korelacji Persony; $r = 0,42$, $p = 0,02$), (rys. 8).

U chorych z dodatnim wynikiem testu prowokacyjnego dawka aspiryny, po której wystąpiły zmiany skórne, nie zależała od podstawowego wydalania LTE_4 z moczem ($p = 0,18$). Chorzy, u których dawka 188 mg aspiryny wywołała reakcję kliniczną, mieli istotnie wyższe wartości LTE_4 w moczu po teście prowokacyjnym z aspiryną w porównaniu z chorymi, u których reakcja wystąpiła po 500 mg ($p = 0,01$; ANOVA) (rys. 9). W obliczeniach tych nie uwzględniono jednej osoby, u której pokrzywka wystąpiła po pierwszej dawce aspiryny, wynoszącej 71 mg; decyzja ta nie wpływała na wnioskowanie statystyczne.

Stężenie LTE_4 w moczu wyrażone w pg/mg kreatyniny przedstawiono w tabeli 6.



Rys. 8. Dodatnia korelacja pomiędzy nasileniem zmian skórnych (PASI_{max}) a podstawowym wydalaniem LTE₄ z moczem u chorych z pokrzywką aspirynową (AIU)



Rys. 9. Wydalanie LTE₄ z moczem, podstawowe i po prowokacji aspiryną, w grupie chorych na pokrzywkę aspirynową (AIU) w zależności od dawki prowokacyjnej aspiryny (● – dawka aspiryny 188 mg, ■ – dawka aspiryny 500 mg)

Tabela 6

Wydalanie LTE_4 z moczem, podstawowe i po prowokacji aspiryną, w grupie chorych na pokrzywkę aspirynową (AIU) i w grupie chorych na przewlekłą pokrzywkę idiopatyczną z ujemnym wynikiem testu prowokacyjnego z aspiryną (CIU)

Chorzy	Wydalanie LTE_4 z moczem (pg/mg kreatyniny)			
	Wartość podstawowa	0 min	120 min	240 min
AIU (n = 30)	536 (270–1026)	506 (260–126)	633 (333–212)	571 (353–226)
PASI < 10 (n = 19)	326 (246–624)	331 (222–615)	555 (218–827)	461 (280–753)
PASI ≥ 10 (n = 11)	1118 (546–2201)	833 (488–2537)	1212 (335–4680)	689 (459–011)
PD = 188 mg (n = 9)	624 (558–1052)	523 (260–1142)	827 (555–2566)	675 (590–4166)
PD = 500 mg (n = 20)	542 (259–985)	520 (291–1110)	575 (262–1118)	472 (297–989)
CIU (n = 44)	286 (178–390)	275 (174–389)	310 (172–522)	212 (150–332)

Grupę AIU podzielono w zależności od: wartości PASI (PASI ≥ 10, PASI < 10) oraz dawki prowokacyjnej (PD) aspiryny (dawka aspiryny 188 mg, dawka aspiryny 500 mg). Wartości w tabeli podano jako medianę (dolny kwartył [25%] i górny kwartył [75%]).

Stężenie trwałego metabolitu PGD_2 ($9\alpha,11\beta\text{PGF}_2$) w surowicy

Podstawowe stężenie $9\alpha,11\beta\text{PGF}_2$ w surowicy nie różniło się w sposób istotny statystycznie między chorymi z dodatnim wynikiem a chorymi z ujemnym wynikiem testu prowokacyjnego z aspiryną ($p = 0,41$; ANOVA) (tab. 5).

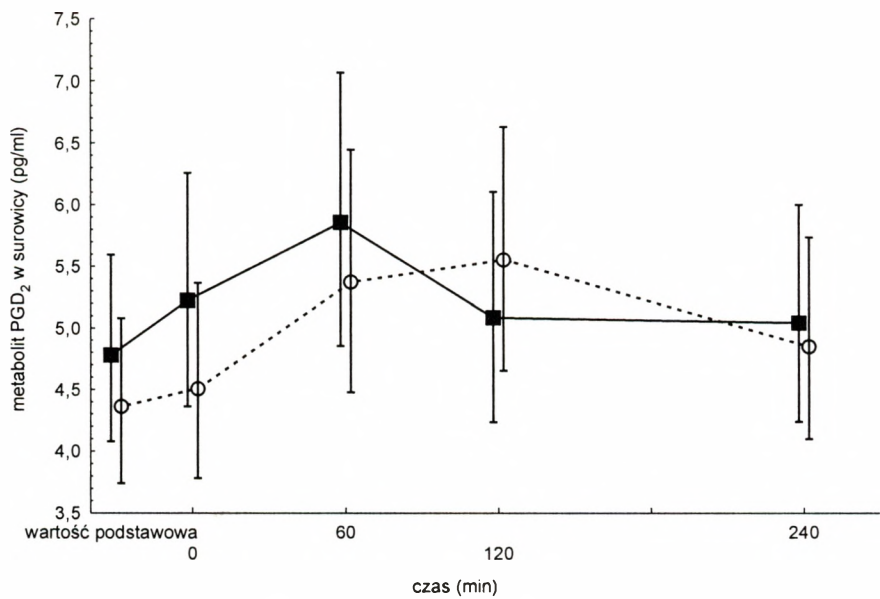
U chorych z dodatnim testem prowokacyjnym stężenie $9\alpha,11\beta\text{PGF}_2$ w surowicy wzrastało w sposób istotny statystycznie po podaniu aspiryny ($p = 0,03$; ANOVA). Najwyższy wzrost $9\alpha,11\beta\text{PGF}_2$ w surowicy obserwowano w 60. minucie od momentu wystąpienia reakcji klinicznej ($p = 0,001$; analiza kontrastów), powrócił on do wartości wyjściowej w godzinę później.

Podobnie u chorych z ujemnym testem prowokacyjnym z aspiryną stężenie $9\alpha,11\beta\text{PGF}_2$ w surowicy również wzrastało w sposób istotny statystycznie po aspirynie ($p < 0,001$; ANOVA). Jednak najwyższy wzrost obserwowano w 120. minucie ($p < 0,001$; analiza kontrastów) od momentu zakończenia testu prowokacyjnego z aspiryną i powróciło do wartości wyjściowej w dwie godziny później (rys. 10).

Nie było związku pomiędzy dawką prowokacyjną aspiryny a stężeniem $9\alpha,11\beta\text{PGF}_2$ – podstawowym i po prowokacji u chorych z pokrzywką aspirynową ($p = 0,74$; ANOVA).

U chorych z pokrzywką aspirynową potwierdzoną testem prowokacyjnym i PASI ≥ 10 w porównaniu z chorymi z PASI < 10 zaobserwowano tendencję do większych podstawowych wartości stężenia $9\alpha,11\beta\text{PGF}_2$ w surowicy ($p = 0,07$).

Stężenia trwałego metabolitu PGD_2 w surowicy wyrażone w pg/ml przedstawiono w tabeli 7.



Rys. 10. Stężenie trwałego metabolitu PGD₂ w surowicy w grupie chorych na pokrzywkę aspirynową (■ – AIU) i w grupie chorych na przewlekłą pokrzywkę idiopatyczną z ujemnym wynikiem testu prowokacyjnego z aspiryną (○ – CIU)

Tabela 7

Stężenie trwałego metabolitu PGD₂ w surowicy, podstawowe i po prowokacji aspiryną, w grupie chorych na pokrzywkę aspirynową (AIU) i w grupie chorych na przewlekłą pokrzywkę idiopatyczną z ujemnym wynikiem testu prowokacyjnego z aspiryną (CIU)

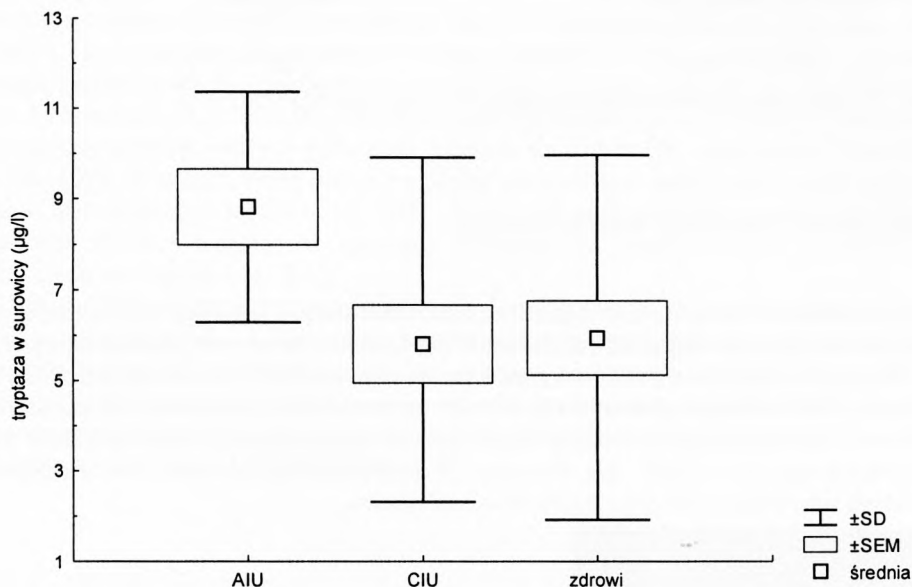
Chorzy	Stężenie trwałego metabolitu PGD ₂ w surowicy (pg/ml)				
	Wartość podstawowa	0 min	60 min	120 min	240 min
AIU (n = 30)	4,85 (3,8–6,1)	5,2 (3,5–6,4)	5,5 (4,2–7,5)	5,4 (3,8–6,8)	5,0 (3,8–6,5)
PASI < 10 (n = 19)	4,3 (3,2–5,1)	4,9 (3,2–6,0)	4,8 (3,7–7,3)	4,3 (3,3–5,8)	4,7 (3,5–6,0)
PASI ≥ 10 (n = 11)	5,6 (4,7–7,4)	5,3 (5,0–6,8)	5,1 (5,5–9,4)	6,6 (5,3–8,5)	5,8 (4,6–6,9)
PD = 188 mg (n = 9)	4,9 (3,2–6,1)	5,1 (3,8–5,5)	5,0 (4,5–7,9)	5,4 (3,8–7,9)	4,5 (3,8–6,7)
PD = 500 mg (n = 20)	4,8 (3,8–5,7)	5,2 (3,4–6,5)	5,5 (4,1–7,4)	5,4 (3,8–6,6)	5,3 (4,0–6,4)
CIU (n = 44)	4,3 (3,1–6,0)	4,4 (3,4–6,5)	4,8 (3,5–8,7)	5,0 (3,6–9,5)	4,7 (3,3–6,8)

Grupę AIU podzielono w zależności od: wartości PASI (PASI ≥ 10, PASI < 10) oraz dawki prowokacyjnej (PD) aspiryny (dawka aspiryny 188 mg, dawka aspiryny 500 mg). Wartości w tabeli podano jako medianę [dolny kwartył [25%] i górny kwartył [75%]].

Tryptaza w surowicy

Podstawowe stężenie tryptazy w surowicy (tab. 5) było istotnie większe u chorych, którzy zareagowali dodatnio na doustne podanie aspiryny w porównaniu z chorymi, u których test prowokacyjny z aspiryną był ujemny ($p = 0,04$), i z osobami zdrowymi ($p = 0,03$). Natomiast nie zaobserwowano różnic między chorymi z ujemnym wynikiem testu prowokacyjnego z aspiryną a zdrowymi ($p = 0,9$) (rys. 11).

Podstawowe stężenie tryptazy w surowicy korelowało z podstawowym stężeniem LTE_4 w moczu tylko w grupie AIU ($R = 0,55$; $p = 0,02$). W żadnej z grup nie było związku między podstawowym stężeniem tryptazy a podstawowym stężeniem trwałego metabolitu PGD_2 w surowicy (AIU $r = -0,19$; $p = 0,44$ oraz CIU $r = 0,07$; $p = 0,78$). Maksymalne natężenie zmian skórnych w skali PASI również nie korelowało z podstawowym stężeniem tryptazy w surowicy chorych na pokrzywkę aspirynową ($r = -0,02$; $p = 0,94$).



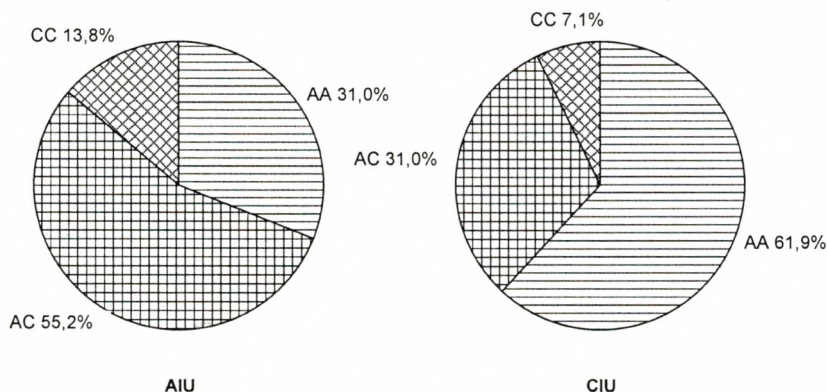
Rys. 11. Podstawowe stężenie tryptazy w surowicy w trzech grupach: 1) AIU – pokrzywka aspirynowa, 2) CIU – przewlekła pokrzywka idiopatyczna z dobrą tolerancją aspiryny, 3) zdrowi

Genotypowanie polimorfizmu regionu promotorowego syntazy LTC_4

W grupie 71 chorych 35 (49,3%) osób było homozygotami allelu AA, 29 osób (40,8%) heterozygotami (AC), a 7 (9,9%) osób homozygotami dla $_{-444}\text{C}$ allelu CC.

Dystrybucja polimorfizmu syntazy LTC_4 u chorych z dodatnim testem prowokacyjnym z aspiryną ($n = 29$) była następująca: 31% (AA), 55,2% (AC) i 13,8% (CC). Natomiast u chorych z ujemnym testem prowokacyjnym z aspiryną ($n = 42$): 61,9% (AA), 31% (AC) i 7,1% (CC) (rys. 12).

Częstość „44C pozytywnego genotypu LTC₄S (AC, CC) była istotnie większa u chorych na pokrzywkę, którzy zareagowali dodatnio na prowokację aspiryną w porównaniu z chorymi, u których test prowokacyjny z aspiryną był ujemny ($q = 0,414$ vs $q = 0,226$; $p = 0,016$, Fisher).

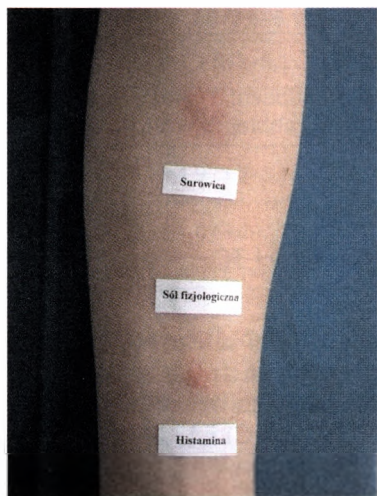


Rys. 12. Dystrybucja polimorfizmu syntazy LTC₄ w grupie AIU i CIU

Testy skórne z aspiryną i własną surowicą

U wszystkich chorych testy punktowe oraz śródskórne z aspiryną były ujemne, niezależnie od tego czy reagowali oni dodatnio, czy ujemnie na doustne podanie aspiryny.

W grupie chorych na pokrzywkę aspirynową test śródskórny z własną surowicą był dodatni u 64% chorych, natomiast u chorych na przewlekłą pokrzywkę idiopatyczną – tylko u 27%. Badane grupy różniły się w sposób istotny statystycznie wynikiem testu autologicznego; $p = 0,01$. Na rysunku 13 przedstawiono dodatni test śródskórny z własną surowicą u chorej na pokrzywkę aspirynową.



Rys. 13. Dodatni autologiczny test śródskórny u chorej z pokrzywką aspirynową

DYSKUSJA

Zaburzenia przemiany eikozanoidów w skórnej postaci nadwrażliwości na aspirynę starano się prześledzić na podstawie badania metabolitów kwasu arachidonowego, zarówno na szlaku cyklooksygenazowym, jak i 5-lipoksygenazowym. Oceniano wydalanie LTE_4 z moczem oraz stężenie trwałego metabolitu PGD_2 w surowicy – w warunkach podstawowych i po prowokacji aspiryną. Celowo wybrano te eikozanoidy, gdyż wydalanie LTE_4 z moczem odzwierciedla ogólnoustrojową produkcję leukotrienów cysteinylowych, których głównym źródłem są eozynofile, mastocyty i bazofile [35, 84, 109]. W astmie aspirynowej na udział eozynofilów wskazywać może wzmożona w nich ekspresja LTC_4S [16, 103]. Natomiast podwyższone stężenie trwałego metabolitu PGD_2 i tryptazy w surowicy wskazuje na zaangażowanie mastocytów w reakcjach nadwrażliwości [11].

U progu XXI wieku odczytano sekwencję 3 miliardów nukleotydów składających się na genom człowieka. Odkrycie to doprowadziło do szybkiego rozwoju badań nad wpływem wariantów polimorficznych, na przykład niektórych enzymów na fenotyp choroby. W tym aspekcie badanie polimorfizmu genetycznego syntazy LTC_4 w pokrzywce aspirynowej było celowe, ponieważ biosynteza leukotrienów cysteinylowych jest kontrolowana przez LTC_4S [63, 64].

Podział chorych na grupy w zależności od wyniku testu prowokacyjnego z aspiryną

U wszystkich chorych ($n = 74$) rozpoznano przewlekłą pokrzywkę idiopatyczną i odnotowano w wywiadach nadwrażliwość na aspirynę. Jednak tylko u 40,5% spośród nich wystąpiły zmiany skórne po prowokacji aspiryną. Wskazuje to w sposób jasny na fakt, że aktualne rozpoznanie nadwrażliwości na aspirynę można ustalić na podstawie dodatnich testów prowokacyjnych z aspiryną. Rola wywiadu jest zasadnicza w podejrzeniu i późniejszym ustaleniu rozpoznania nadwrażliwości na aspirynę. Trudno również wykluczyć, że stopień nadwrażliwości może się wahać na przestrzeni czasu i w pewnych okresach życia chorzy mogą mieć ujemne, a w innych dodatnie wyniki testów prowokacyjnych z aspiryną. Istnieje także możliwość tylko i wyłącznie zaostrożenia istniejących już zmian skórnych przez aspirynę, a nie wywoływania ich w okresie remisji choroby. W badaniach przedstawionych w niniejszej pracy wszyscy

chorzy byli w okresie całkowitej remisji choroby. Przestanki te mają ważne implikacje kliniczne i wskazują na ostrożność stosowania leków blokujących COX u chorych, którzy w wywiadzie podają uczulenie na aspirynę.

Podwójna, oskrzelowa i skórna reakcja na aspirynę u 3 spośród 30 chorych na pokrzywkę aspirynową (10%), potwierdza możliwość równoczesnego występowania obu postaci klinicznych nadwrażliwości [122].

Podobieństwa zaburzeń przemiany leukotrienów i prostaglandyn w astmie i pokrzywce aspirynowej

Do tej pory niewiele było wiadomo na temat klinicznej przydatności i oznaczeń stężenia mediatorów eikozanoidowych dla rozpoznania, a nawet wykrycia predyspozycji do reakcji nadwrażliwości na NSLPZ.

W przeprowadzonych w niniejszej pracy badaniach podstawowe wydalanie LTE_4 z moczem było istotnie większe u chorych z pokrzywką aspirynową w porównaniu zarówno z chorymi, u których test prowokacyjny z aspiryną był ujemny, jak i z osobami zdrowymi. Stwierdzono wzrost wydalania LTE_4 z moczem po prowokacji tylko w grupie chorych z dodatnim testem prowokacyjnym z aspiryną. Podobnie Di Lorenzo i wsp. ostatnio zmierzili wydalanie LTE_4 z moczem u 5 chorych na pokrzywkę aspirynową w porównaniu z 10 chorymi na przewlekłą pokrzywkę idiopatyczną, dobrze tolerującymi aspirynę. Nie zauważyli oni różnic w podstawowym wydalaniu LTE_4 z moczem w obu badanych grupach, natomiast stężenie to wzrastało po prowokacji aspiryną tylko u chorych z nadwrażliwością na aspirynę [20]. Była to mała grupa, licząca tylko 5 chorych, i stąd najprawdopodobniej wynikają różnice dotyczące podstawowego wydalania LTE_4 z moczem.

Podobny wzrost syntezy cys-LT, określanych jako „nadprodukcja substancji bronchospastycznych” – pochodnych kwasu arachidonowego, obserwujemy w astmie aspirynowej [14, 15, 45, 61, 87]. W świetle wyników przedstawionych w tej pracy cys-LT odgrywają zasadniczą rolę nie tylko w skurczu oskrzeli, ale również w powstawaniu zmian skórnych indukowanych aspiryną.

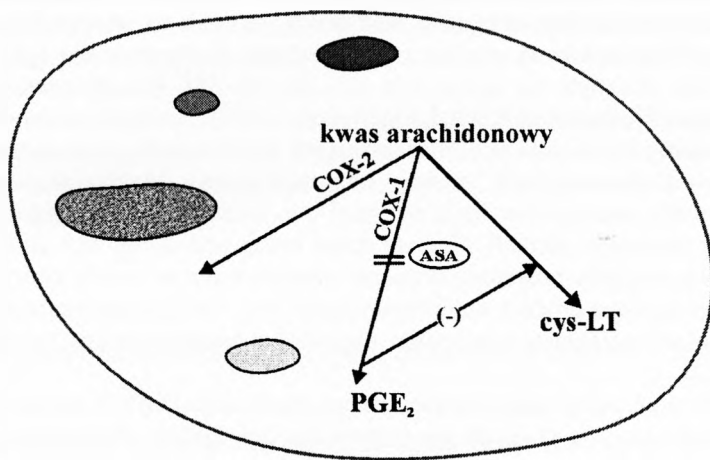
Co więcej, w grupie chorych na pokrzywkę aspirynową podstawowe wydalanie LTE_4 z moczem było istotnie większe u chorych z bardzo silną reakcją skórą w porównaniu z chorymi, u których obserwowano niewielkie zmiany skórne po prowokacji aspiryną. Być może podstawowe wydalanie LTE_4 z moczem będzie jednym z wielu innych jeszcze nieznanых czynników, na podstawie których można będzie przewidzieć natężenie reakcji skórnej po aspirynie. Przypuszczenie to wymaga potwierdzenia w badaniach na dużej grupie chorych.

Po prowokacji aspiryną istotnie większe wartości LTE_4 w moczu mieli chorzy z dodatnią próbą prowokacyjną, u których mniejsza dawka kumulacyjna aspiryny, tj. 188 mg, wywoływała reakcję kliniczną w porównaniu z osobami, u których reakcja skórna wystąpiła po 500 mg. Ciekawe, że osoby „bardziej wrażliwe” na aspirynę, a więc reagujące na jej mniejszą dawkę pokrzywką, wydalały więcej LTE_4 z moczem po prowokacji aspiryną. Obserwacja ta może wskazywać w sposób pośredni na zmie-

nioną aktywność COX w stosunku do aspiryny. Poza tym podstawowe wydalenie LTE_4 z moczem nie korelowało z dawką kumulacyjną aspiryny wywołującą pokrzywkę.

Głównym źródłem cys-LT, końcowych metabolitów przemian kwasu arachidonowego na szlaku 5-lipoksygenazowym, są eozynofile, mastocyty i bazofile [84, 109]. W warunkach *in vitro* uwalnianie cys-LT z leukocytów krwi obwodowej jest zależne od biosyntezy PGE_2 , której ilość zmniejsza się pod wpływem NSLPZ [13]. Zaobserwowano, że fibroblasty dróg oddechowych u chorych na AIA mają mniejszą zdolność do wytwarzania PGE_2 niż komórki chorych na astmę dobrze tolerujących aspirynę [94]. Można przypuszczać, że miejscowy niedobór PGE_2 , wywołany przez aspirynę, usuwa mechanizm hamujący biosyntezę cys-LT i pozwala na ich nadprodukcję [60, 126, 130]. Hipotezę tę wspiera fakt, że PGE_2 chroni oskrzela przed skurczem indukowanym aspiryną [92, 115, 131] i zapobiega wzrostowi LTE_4 w moczu [115]. Do tej pory nie badano jeszcze ewentualnego korzystnego wpływu prostaglandyn E (np. mizoprostolu – doustnego analogu PGE_1) na występowanie zmian skórnych po aspirynie.

Podobieństwo astmy i pokrzywki aspirynowej sięga patomechanizmu obydwu reakcji nadwrażliwości na NSLPZ, przejawiającego się nadprodukcją cys-LT. W obu postaciach nadwrażliwości na aspirynę bezpośrednim czynnikiem wyzwalającym objawy kliniczne jest zahamowanie aktywności COX-1, przy jednoczesnej dobrej tolerancji wybiórczych inhibitorów COX-2 [85, 91, 134, 155]. Komórkami krytycznymi dla tych niepożądanych reakcji są w płucach eozynofile i mastocyty, a w skórze przypuszczalnie tylko mastocyty, chociaż pewne znaczenie mogą odgrywać też bazofile i komórki Langerhansa prezentujące antygen. Na rysunku 14 przedstawiono proponowany komórkowy patomechanizm nadwrażliwości na aspirynę.



Rys. 14. Proponowany komórkowy patomechanizm nadwrażliwości na aspirynę

Innym eikozanoidem badanym w pokrzywce aspirynowej był trwały metabolit PGD_2 w surowicy, który jest produktem przemian kwasu arachidonowego na szlaku cyklooksygenazowym. Prostaglandyny nie są magazynowane w organizmie, tworzą się w miarę potrzeb *ex tempore* i są bardzo szybko metabolizowane i unieczynniane [114]. W laboratorium II Katedry Chorób Wewnętrznych Collegium Medicum Uniwersytetu

Jagiellońskiego wdrożono nowoczesne metody analityczne, oparte na technikach spektrometrii mas sprzężonej z chromatografią gazową i wysoko sprawną chromatografią cieczową, które pozwalają oznaczyć prostaglandyny w próbkach biologicznych, w tym również trwały metabolit PGD₂.

Zarówno PGD₂, jak i jej trwały metabolit 9α,11βPGF₂, silnie kurczą oskrzela. U chorych na astmę aspirynową zaobserwowano wzrost uwalniania 9α,11βPGF₂ tak do moczu [11, 90], jak i do surowicy po prowokacji aspiryną, co mogłoby wskazywać na aktywację mastocytów płucnych [11]. Podobne obserwacje poczyniono w niniejszej pracy w odniesieniu do chorych na pokrzywkę aspirynową. Stężenie 9α,11βPGF₂ w surowicy w warunkach podstawowych nie różniło się w sposób istotny między chorymi na pokrzywkę aspirynową a chorymi na przewlekłą pokrzywkę idiopatyczną, dobrze tolerującymi aspirynę. W obu badanych grupach, niezależnie od wyniku próby prowokacyjnej, stężenie 9α,11βPGF₂ w surowicy wzrastało po aspirynie. Nasuwa się pytanie, dlaczego niezależnie od tego czy aspiryna wywołuje reakcje skórne, czy nie, obserwuje się po niej wzrost uwalniania PGD₂ do krwi. Różnica dotyczy jedynie czasu, w którym nastąpił maksymalny wzrost stężenia 9α,11βPGF₂ w surowicy od momentu wystąpienia reakcji klinicznej (AIU) lub podania całkowitej dawki kumulacyjnej aspiryny (CIU). W grupie AIU wzrost ten obserwowany jest o godzinę wcześniej w porównaniu z grupą CIU. Wskazuje to na zasadniczy udział mastocytów w patogenezie tej choroby. To mastocyty są głównym źródłem komórkowym PGD₂ [10, 70], chociaż niewielkie ilości mogą być uwalniane przez makrofagi płucne [66] i płytki krwi [89]. Ponadto syntezę PGD₂ wykryto w skórze, macicy, mięśniach szkieletowych i rdzeniu nerek [31].

Jednym z wielu mechanizmów aktywowania mastocytów i uwalniania z nich PGD₂ mogą być autoprzeciwciała obecne u niektórych chorych na przewlekłą pokrzywkę idiopatyczną. Przeciwciała te reagują z podjednostką α receptora dla IgE o wysokim powinowactwie, obecnym na mastocycie [27, 28, 34, 44]. Receptor ten znajduje się również na bazofilach, komórkach Langerhansa i aktywowanych eozynofilach [95]. Aspiryna mogłaby u tych chorych, niezależnie od wyniku próby aspirynowej, spełniać rolę substancji „wspomagającej” reakcję immunologiczną. Możliwość analogicznego procesu aktywacji mastocytów i/lub eozynofilów, zachodzącego w płucach i przejawiającego się skurczem oskrzeli, nie była dotąd brana pod uwagę ani nie była badana. Koncepcję taką mogłyby pośrednio wspierać obserwowane w astmie aspirynowej podprogowo przebiegające procesy autoimmunizacji [133, 140], jej sporadyczne skojarzenia z autoimmunologicznym zapaleniem naczyń i charakterystyczny wzrost przeciwciał IgG4 [133].

Istnieje również możliwość spontanicznego uwalniania PGD₂ z mastocytów, czego nie można wykluczyć u chorych na przewlekłą pokrzywkę idiopatyczną. Zjawisko takie obserwuje się w mastocytozie [7]. Choroba ta charakteryzuje się proliferacją tkankowych mastocytów i wydalaniem dużej ilości prostaglandyn z moczem.

Wyniki badań przedstawione w tej pracy sugerują, że izolowany wzrost trwałego metabolitu PGD₂ w surowicy po aspirynie nie jest wystarczającym czynnikiem do wywołania objawów skórnych. U chorych na pokrzywkę aspirynową najprawdopodobniej współistnieje wiele innych czynników (oprócz np. autoimmunologicznych) wywołujących nadwrażliwość na aspirynę.

Uwalnianie mediatorów z mastocytów na drodze niezależnej od IgE mogą stymulować: anafilatoksyny (C3a, C4a, C5a), jonofory wapnia, hiperosmolarność, kodeina,

morfina, substancja P, gastryna, ATP [70]. Odpowiedź na te czynniki jest uzależniona od populacji mastocytów. Przykładem może być C5a, która działa na ludzkie mastocyty pochodzenia skórnoego, ale nie działa na mastocyty płucne. Reakcja ta odbywa się poprzez receptor związany z białkiem G, co aktywuje fosfolipazę C i doprowadza do przejściowego wzrostu stężenia wewnątrzkomórkowego jonów Ca^{+2} [68]. Zwykle konieczne jest wcześniejsze uwrażliwienie komórki przez cytokiny, na przykład IL-4. Można przypuszczać, że u chorych na astmę i pokrzywkę aspirynową NSLPZ mogłyby odgrywać rolę substancji „dodatkowej” uwrażliwiającej komórki na czynniki powodujące nieimmunologiczną degranulację.

Analiza indywidualnych chorych zarówno na astmę [129], jak i pokrzywkę aspirynową wykazała, że stężenie trwałego metabolitu PGD_2 w surowicy zwykle wzrasta po prowokacji aspiryną, choć nie jest to regułą. Dlaczego aspiryna, która jest inhibitorem COX, miałaby powodować wzrost stężenia PGD_2 ? Można przypuszczać, że u chorych z nadwrażliwością na aspirynę istnieje zmieniona odpowiedź COX na działanie aspiryny. U niektórych chorych aspiryna stymuluje syntezę PGD_2 , natomiast u innych nie wpływa na jej produkcję, a nawet jest w stanie ją zahamować. Wynikać to może ze zmiany genów kodujących COX na przykład pod wpływem długotrwałej infekcji wirusowej lub innych nieznanymi czynników.

Tryptaza uwalniana jest do surowicy głównie z mastocytów i w niewielkiej ilości z bazofilów. Enzym ten uwrażliwia mięśnie gładkie na histaminę, pobudza chemotaksję eozynofików, stymuluje fibroblasty i włóknienie, inaktywuje fibrynogen [68]. Zwiększone zatem, podstawowe stężenie tryptazy w surowicy u chorych na pokrzywkę aspirynową [155] może wskazywać na stałą, „podprogową” aktywację tych komórek. Podobne obserwacje poczyniono w naszej katedrze u chorych na astmę aspirynową [11]. Co więcej, u tych chorych zaobserwowano wzrost uwalniania tryptazy do surowicy po prowokacji aspiryną [11]. Takie badania nie były prowadzone u chorych na pokrzywkę aspirynową.

Podstawowe stężenie tryptazy w surowicy u chorych na pokrzywkę aspirynową korelowało dodatnio z podstawowym stężeniem LTE_4 w moczu. Sugeruje to podobne pochodzenie leukotrienów cysteinylowych i tryptazy. Źródłem tych dwóch substancji mogłyby być mastocyty.

Polimorfizm genetyczny syntazy LTC_4 i jego związek z fenotypem pokrzywki

Ta część badania zmierzała do ustalenia genetycznej podatności na reakcję nadwrażliwości na NSLPZ. Odkryty w naszym laboratorium polimorfizm syntazy leukotrienu C_4 wydaje się jedną z determinant genetycznych wystąpienia astmy aspirynowej w polskiej populacji [110].

U chorych na pokrzywkę aspirynową stwierdzono znamienne częściej nosicielstwo allelu $_{444}\text{C}$ genu LTC_4S , w porównaniu z chorymi na przewlekłą pokrzywkę idiopatyczną, dobrze tolerującymi aspirynę. Podobnie w ciężkiej postaci astmy aspirynowej, wymagającej przewlekłej doustnej kortykosteroidoterapii, stwierdzono asocjację genetyczną z allelem $_{444}\text{C}$ genu LTC_4S . Nie wykazano natomiast podobnej zależności

między ciężkością choroby a nosicielstwem allelu $\Delta 444C$ wśród chorych na astmę, dobrze tolerujących aspirynę [106, 110].

U chorych na lekką astmę aspirynową nie obserwowano zwiększonego uwalniania leukotrienów cysteinylowych z aktywowanych leukocytów krwi obwodowej [93].

Nosicielstwo allelu $\Delta 444C$ genu LTC4S związane jest ze zwiększoną biosyntezą cys-LT przez aktywowane eozynofile krwi [104] oraz dobrą odpowiedzią kliniczną na leczenie antagonistami receptorów leukotrienowych u chorych na astmę aspirynową [3, 76, 104].

U chorych na pokrzywkę aspirynową, którzy nie dziedziczą wariantu allelicznego $\Delta 444C$ genu LTC4S i nie odpowiadają na prowokację aspiryną wzrostem wydalania LTE_4 w moczu, wysiew bąbli pokrzywkowych może zależeć od innych mediatorów niż cys-LT, na przykład histaminy, tryptazy czy prostaglandyn. Hipotezę tę dodatkowo może wspierać obserwacja własna dotycząca braku odpowiedzi klinicznej u części chorych na leki antyleukotrienowe, przy dobrej odpowiedzi na leki antyhistaminowe. Istnieje jednak pewien optymizm, co do skutecznego leczenia przewlekłej pokrzywki lekami antyleukotrienowymi [4, 26].

Przypuszczalne patomechanizmy przewlekłej pokrzywki idiopatycznej indukowanej aspiryną

Mechanizm występowania zmian skórnych po aspirynie u chorych z przewlekłą pokrzywką idiopatyczną nadal nie jest w pełni poznany. Ujemne wyniki testów skórnych z aspiryną wykluczają patomechanizm immunologiczny, zależny od IgE. Patogeneza pokrzywki aspirynowej wydaje się mieć bezpośredni związek z zahamowaniem przez aspirynę COX-1, biorącej udział w syntezie prostanoidów [146]. Na udział COX-1, a nie COX-2, w patogenezie pokrzywki aspirynowej wskazuje dobra tolerancja koksylów przez chorych na AIU [155]. Zahamowanie COX-1 przez aspirynę prowadzi najprawdopodobniej do zmniejszonej produkcji PGE_2 i pozbawienia jej hamującego wpływu na produkcję cys-LT. Hipotezę tę wzmacnia fakt nadprodukcji cys-LT u chorych na pokrzywkę aspirynową [20, 79]. Ponadto stwierdzono, że podanie śródskórne cys-LT może wywołać bąbel pokrzywkowy, obrzęk i zaczerwienienie skóry [121]. Najprawdopodobniej w pokrzywce aspirynowej zasadniczą rolę odgrywa mastocyt, który jest głównym źródłem mediatorów uwalnianych w czasie reakcji skórnej indukowanej aspiryną. Należą do nich cys-LT, PGD_2 i tryptaza [69].

Co ciekawe, opisano pierwsze przypadki przewlekłej pokrzywki idiopatycznej indukowanej aspiryną z dodatnim testem śródskórnym, z własną surowicą [5]. Obserwację tę potwierdzają wyniki badań przedstawione w niniejszej pracy, w której aż 64% chorych miało dodatnie testy śródskórne z własną surowicą. Być może u niektórych chorych reakcja autoimmunologiczna prowadzi do uwolnienia mediatorów, w tym histaminy, tryptazy, leukotrienów i prostaglandyn z mastocytów, a następnie do wystąpienia pokrzywki. Jednak wynik testu z własną surowicą nie jest dodatni u wszystkich chorych i nie w pełni wiadomo, jaki „czynniki” wywołuje dodatnie od-czyny skórne.

Pewne znaczenie w skórnej postaci nadwrażliwości na aspirynę może mieć również przewlekła infekcja wirusowa, na przykład szerząca się wzdłuż włókien nerwowych w skórze, lub inne „czynniki”, które znoszą immunosupresyjne i hamujące właściwości PGE_2 na uwalnianie mediatorów z komórek. Czynniki te mogą również wpływać na zmianę genów kodujących COX, co prowadzi do zmienionej odpowiedzi tego enzymu na działanie aspiryny.

WNIOSKI

1. Patomechanizm skórnej i oskrzelowej postaci nadwrażliwości na aspirynę jest podobny. Wiąże się on z zahamowaniem aktywności COX przez aspirynę, co prowadzi do wyrzutu leukotrienów cysteinylowych z komórek, który znajduje odbicie we wzroście stężenia LTE_4 w moczu.

2. Wydalanie LTE_4 w moczu, zarówno podstawowe, jak i po prowokacji aspiryną, jest większe u chorych na pokrzywkę aspirynową niż u chorych na przewlekłą pokrzywkę idiopatyczną, dobrze tolerujących aspirynę. Podobne obserwacje poczyniono u chorych na astmę aspirynową.

3. Stopień nasilenia reakcji skórnej po aspirynie wykazuje dodatni związek z podstawowym wydalaniem LTE_4 w moczu.

4. Po prowokacji aspiryną stężenie trwałego metabolitu PGD_2 w surowicy wzrasta zarówno u chorych na przewlekłą pokrzywkę idiopatyczną, niezależnie od wyniku testu prowokacyjnego z aspiryną, jak i u chorych na astmę, co sugeruje aktywację mastocytów.

5. Podstawowe stężenie tryptazy w surowicy jest istotnie większe u chorych na pokrzywkę aspirynową, w porównaniu z chorymi na przewlekłą pokrzywkę idiopatyczną, dobrze tolerującymi aspirynę, co dodatkowo wskazuje na aktywację mastocytów.

6. Nadwrażliwość na aspirynę wykazuje związek z polimorfizmem regionu promotorowego syntazy LTC_4 . Częstość wariantu allelicznego $_{-444}\text{C}$ genu LTC4S jest większa u chorych na pokrzywkę aspirynową niż u chorych na przewlekłą pokrzywkę idiopatyczną, dobrze tolerujących aspirynę. Podobna, zwiększona częstość wariantu allelicznego $_{-444}\text{C}$ występuje u chorych na astmę aspirynową o ciężkim przebiegu.

STRESZCZENIE

Wstęp: Aspiryna (kwas acetylosalicylowy), tak jak inne niesteroidowe leki przeciwzapalne (NSLPZ) blokujące cyklooksygenazę, może wywołać reakcję nadwrażliwości zarówno u chorych na astmę oskrzelową, jak i u chorych na przewlekłą pokrzywkę idiopatyczną. Wcześniejsze doniesienia dotyczące dobrej tolerancji koksylów przez chorych z nadwrażliwością na aspirynę sugerują udział inhibitorów COX-1, a nie COX-2 w powstawaniu tej reakcji.

Cel pracy: Celem badania była próba odpowiedzi na pytanie: czy istnieje i jaki jest wspólny mechanizm, na drodze którego NSLPZ wywołują reakcje nadwrażliwości, manifestujące się bądź to jako astma oskrzelowa, bądź jako pokrzywka?

Materiał i metody: Doustny test prowokacyjny z aspiryną z użyciem placebo wykonano u 74 chorych na przewlekłą pokrzywkę idiopatyczną, którzy podawali w wywiadach uczulenie na aspirynę. Stężenie LTE_4 w moczu mierzone było metodą ELISA, a stężenie trwałego metabolitu PGD_2 w surowicy – metodą GC-NICI-MS. Wydalanie LTE_4 z moczem oraz stężenie trwałego metabolitu PGD_2 w surowicy mierzone były jako wartości podstawowe i po teście prowokacyjnym z aspiryną. Natomiast stężenie tryptazy w surowicy oznaczono tylko w warunkach podstawowych. U chorych genotypowano polimorfizm pojedynczego nukleotydu syntazy LTC_4 , znajdujący się w odległości 444 zasad przed miejscem startu translacji.

Wyniki: U 30 spośród 74 chorych na przewlekłą pokrzywkę idiopatyczną doustny test prowokacyjny z aspiryną był dodatni, tzn. wystąpiła u nich pokrzywka, często z towarzyszącym obrzękiem naczynioruchowym. U tych chorych wydalanie LTE_4 z moczem, zarówno podstawowe, jak i po prowokacji aspiryną, było istotnie większe w porównaniu z chorymi, u których wynik testu prowokacyjnego z aspiryną był ujemny. Stopień nasilenia reakcji skórnej po aspirynie dodatnio korelował z podstawowym wydalaniem LTE_4 z moczem. Stężenie trwałego metabolitu PGD_2 w surowicy wzrastało po prowokacji aspiryną u chorych na przewlekłą pokrzywkę zarówno z dodatnim, jak i z ujemnym testem prowokacyjnym. Podstawowe stężenie tryptazy w surowicy było istotnie większe u chorych na pokrzywkę aspirynową w porównaniu z chorymi dobrze tolerującymi aspirynę i zdrowymi. Częstość wariantu allelicznego ^{444}C genu LTC4S była zwiększona u chorych na pokrzywkę aspirynową.

Wnioski: Chorych na przewlekłą pokrzywkę idiopatyczną z nadwrażliwością na aspirynę charakteryzują podobne zaburzenia przemiany eikozanoidów, jak chorych na astmę aspirynową.

PIŚMIENNICTWO

1. Adamek-Guzik T., Guzik T.J., Czerniawska-Mysik G., Korpanty G., Mastalerz L., Radwan J., Szczeklik A.: Urinary leukotriene levels are increased during exacerbations of atopic eczema/dermatitis syndrome: relation to clinical status. *Allergy*, 2002, 57, 732–736.
2. Antczak A., Montuschi P., Kharitonov S., Górski P., Barnes P.J.: Increased exhaled cysteinyl-leukotrienes and 8-isoprostane in aspirin-induced asthma. *Am. J. Resp. Crit. Care. Med.*, 2002, 166, 301–306.
3. Asano K., Shiomi T., Hasegawa N., Nakamura H., Kudo H., Matsuzaki T., Hukano H., Fukunaga K., Suzuki Y., Kanazawa M., Yamaguchi K.: Leukotriene C4 synthase gene A (-444)C polymorphism and clinical response to a CYS-LT(1) antagonist, pranlukast, in Japanese patients with moderate asthma. *Pharmacogenetics*, 2002, 12, 565–570.
4. Asero R.: Leukotriene receptor antagonists may prevent NSAID-induced exacerbations in patients with chronic urticaria. *Ann. Allergy Asthma Immunol.*, 2000, 85, 156–157.
5. Asero R., Tedeschi A., Lorini M.: Autoreactivity is highly prevalent in patients with multiple intolerances to NSAIDs. *Ann. Allergy Asthma Immunol.*, 2002, 88, 468–472.
6. Asero R., Tedeschi A., Lorini M., Salimbeni R., Zanoletti T., Miadonna I.A.: Chronic urticaria: novel clinical and serological aspects. *Clin. Exp. Allergy*, 2001, 31, 1105–1110.
7. Bazan-Socha S., Rudzki Z., Maciejewicz J., Witkoś T., Szczeklik A.: Różnopostaciowość kliniczna w dwóch przypadkach mastocytozy układowej. *Pol. Arch. Med. Wewn.*, 2001, 4, 311–315.
8. Berges-Gimeno M.P., Simon R.A., Stevenson D.D.: The natural history and clinical characteristics of aspirin-exacerbated respiratory disease. *Ann. Allergy Asthma Immunol.*, 2002, 89, 474–478.
9. Bindslev-Lensen C., Finzi A., Greaves M., Camarasa J., Ortonne J.P., Schöpf E., Tennstedt D.: Chronic urticaria: diagnostic recommendations. *J. Eur. Acad. Dermatol. Venereol.*, 2000, 14, 175–180.
10. Bingham C.O. 3rd, Austen K.F.: Mast-cell responses in the development of asthma. *J. Allergy Clin. Immunol.*, 2000, 105, S527–534.
11. Bochenek G., Nagraba K., Nizankowska E., Szczeklik A.: A controlled study of $9\alpha,11\beta$ -PGF₂ (a prostaglandin D₂ metabolite) in plasma and urine of patients with bronchial asthma and healthy controls after aspirin challenge. *J. Allergy Clin. Immunol.*, 2003, 111, 743–749.
12. Bochenek G., Nizankowska E., Szczeklik A.: The atopy trait in hypersensitivity to nonsteroidal anti-inflammatory drugs. *Allergy*, 1996, 51, 16–23.
13. Çelik G., Bavbek S., Misirligil Z., Melli M.: Release of cysteinyl leukotrienes with aspirin stimulation and the effect of prostaglandin E₂ on this release from peripheral blood leucocytes in aspirin-induced asthmatic patients. *Clin. Exp. Allergy*, 2001, 31, 1615–1622.

14. Christie P.E., Tagari P., Ford-Hutchinson A.W., Black C., Markendorf A., Schmitz-Schumann M., Lee T.H.: Urinary leukotriene E₄ after lysine-aspirin inhalation in asthmatic subjects. *Am. Rev. Respir. Dis.*, 1992, 146, 1531–1534.
15. Christie P.E., Tagari P., Ford-Hutchinson A.W., Charlesson S., Chee P., Arm J.P., Lee T.H.: Urinary leukotriene E₄ concentrations increase after aspirin challenge in aspirin-sensitive asthmatic subjects. *Am. Rev. Respir. Dis.*, 1991, 143, 1025–1029.
16. Cowburn A.S., Śladek K., Soja J., Adamek Ł., Nizankowska E., Szczeklik A., Lam B.K., Penrose J.F., Austen K.F., Holgate S.T., Sampson A.P.: Overexpression of leukotriene C₄ synthase in bronchial biopsies from patients with aspirin-intolerant asthma. *J. Clin. Invest.*, 1998, 101, 834–846.
17. Dahlén B., Margolskee D.J., Zetterström O., Dalhén S.-E.: Effect of the leukotriene receptor antagonist MK-0679 on baseline pulmonary function in aspirin sensitive asthmatic subjects. *Thorax*, 1993, 48, 1205–1210.
18. Dahlén B., Nizankowska E., Szczeklik A., Zetterström O., Bochenek G., Kumlin M., Mastalerz L., Pinis G., Swanson L.J., Boodhoo T.I., Wright S., Dubé L.M., Dahlén S.-E.: Benefits from adding the 5-lipoxygenase inhibitor zileuton to conventional therapy in aspirin-intolerant asthmatics. *Am. J. Respir. Crit. Care Med.*, 1998, 157, 1187–1194.
19. De Weck A.L.: Immunological effects of aspirin anhydride, a contaminant of commercial acetylsalicylic acid preparations. *Int. Arch. Allergy Appl. Immunol.*, 1971, 41, 393–418.
20. Di Lorenzo G., Pacor M.L., Vignola A.M., Profita M., Esposito-Pellitteri M., Biasi D., Corrocher R., Caruso C.: Urinary metabolites of histamine and leukotrienes before and after placebo-controlled challenge with ASA and food additives in chronic urticaria patients. *Allergy*, 2002, 57, 1180–1186.
21. Drazen J.M., Yandava C.N., Dube L., Szczerback N., Hippensteel R., Pillari A., Israel E., Schork N., Silverman E.S., Katz D.A., Drajesk J.: Pharmacogenetic association between ALOX5 promoter genotype and the response to anti-asthma treatment. *Nat. Genet.*, 1999, 22, 168–170.
22. Dreser H.: Pharmacologisches über Aspirin (Acetylsalicyl-säure). *Pfluger's Arch. Gesamte Physiol. Menschen Tiere*, 1899, 76, 306–318.
23. Droszcz W. (red.): Astma oskrzelowa. Warszawa, PZWL, 1995.
24. Dwyer J.H., Allayee H., Dwyer K.M., Fan J., Wu H., Mar R., Lusi A.J., Mehrabian M.: Arachidonate 5-lipoxygenase promoter genotype, dietary arachidonic acid, and atherosclerosis. *N. Engl. J. Med.*, 2004, 350, 29–37.
25. Enrique E., Cisteró-Bahima A., San Miguel-Moncin M.M., Alonso R.: Rofecoxib should be tried in NSAID hypersensitivity. *Allergy*, 2000, 55, 1090.
26. Erbagci Z.: The leukotriene receptor antagonist montelukast in the treatment of chronic idiopathic urticaria: a single-blind, placebo-controlled, crossover clinical study. *J. Allergy Clin. Immunol.*, 2002, 110, 484–488.
27. Ferrer M., Kinet J.P., Kaplan A.P.: Comparative studies of functional and binding assays for IgG anti-FcεRIα (α-subunit) in chronic urticaria. *J. Allergy Clin. Immunol.*, 1998, 101, 672–676.
28. Fiebigler E., Maurer D., Holub H., Reininger B., Hartmann G., Woisetschlager M., Kinet J.-P., Stingl G.: Serum IgG autoantibodies directed against the α chain of FcεRI: a selective marker and pathogenetic factor for a distinct subset of chronic urticaria patients? *J. Clin. Invest.*, 1995, 96, 2606–2612.
29. Fredriksson T., Pettersson U.: Severe psoriasis – oral therapy with a new retinoid. *Dermatologica*, 1978, 157, 238–244.
30. Gilbert G.B.: Unusual idiosyncrasy to aspirin. *JAMA*, 1911, 56, 1262.
31. Giles H., Leff P.: The biology and pharmacology of PGD₂. *Prostaglandins*, 1988, 35, 277–300.

32. Grattan C.E.H., Wallington T.B., Warin R.P., Kennedy C.T., Bradfield J.W.: A serological mediator in chronic idiopathic urticaria – a clinical, immunological and histological evaluation. *Br. J. Dermatol.*, 1986, 114, 583–590.
33. Greaves M.: Chronic urticaria. *J. Allergy Clin. Immunol.*, 2000, 105, 664–672.
34. Greaves M.W.: Pathophysiology of chronic urticaria. *Int. Arch. Allergy Immunol.*, 2002, 127, 3–9.
35. Gryglewski R.J., Szczeklik A., Czerniawska-Mysik G.: Aspirin sensitivity: other drugs. *Ann. Intern. Med.*, 1975, 82, 286–287.
36. Grzelewska-Rzymowska I. (red.): Pokrzywka: atopowe zapalenie skóry. Warszawa 1998.
37. Grzelewska-Rzymowska I.: Serum neutrophil chemotactic activity (NCA) during aspirin-induced urticaria and angioedema. *Allergol. Immunopathol.*, 1988, 16, 231–236.
38. Grzelewska-Rzymowska I., Szmidt M., Grzegorzczak J., Rożniecki J.: Aktywność chemo-taktyczna surowicy dla granulocytów po aspirynie u chorych z pokrzywkowo-obrzękową postacią nadwrażliwości na aspirynę znajdujących się w stanie tolerancji na ten lek. *Pneumonol. Alergol. Pol.*, 1993, 61, 357–361.
39. Grzelewska-Rzymowska I., Szmidt M., Rożniecki J.: Pokrzywka z nadwrażliwością na aspirynę; studium kliniczne. *Pneumonol. Alergol. Pol.*, 1993, 61, 24–28.
40. Grzelewska-Rzymowska I., Szmidt M., Rożniecki J., Ruta U.: Zachowanie się inhibitora C1 esterazy u osób z pokrzywkowo-obrzękową postacią nadwrażliwości na aspirynę. *Pneumonol. Alergol. Pol.*, 1993, 61, 352–357.
41. Hawkey C.J.: COX-2 inhibitors. *Lancet*, 1999, 353, 307–314.
42. Heise C.E., O'Dowd B.F., Figueroa D.J., Sawyer N., Nguyen T., Im D.-S., Stocco R., Bellefeuille J.N., Abramovitz M., Cheng R., Williams D.L. Jr, Zeng Z., Liu Q., Ma L., Clements M.K., Coulombe N., Liu Y., Austin C.P., George S.R., O'Neill G.P., Metters K.M., Lynch K.R., Evans J.F.: Characterization of the human cysteinyl leukotriene 2 receptor. *J. Biol. Chem.*, 2000, 275, 30531–30536.
43. Helgadottir A., Manolescu A., Thorleifsson G., Gretarsdottir S., Jonsdottir H., Thorsteinsdottir U., Samani N.J., Gudmundsson G., Grant S.F.A., Thorgeirsson G., Sveinbjornsdottir S., Valdimarsson E.M., Matthiasson S.E., Johannsson H., Gudmundsdottir O., Gurney M.E., Sainz J., Thorhallsdottir M., Andresdottir M., Frigge M.L., Topol E.J., Kong A., Gudnason V., Hakonarson H., Gulcher J.R., Stefansson K.: The gene encoding 5-lipoxygenase activating protein confers risk of myocardial infarction and stroke. *Nat. Genet.*, 2004, 36, 233–239.
44. Hide M., Francis D.M., Grattan C.E.H., Hakimi J., Kochan J.P., Greaves M.W.: Autoantibodies against the high-affinity IgE receptor as a cause of histamine release in chronic urticaria. *N. Engl. J. Med.*, 1993, 328, 1599–1604.
45. Higashi N., Taniguchi M., Mita H., Kawagishi Y., Ishii T., Higashi A., Osame M., Akiyama K.: Clinical features of asthmatic patients with increased urinary leukotriene E4 excretion (hyperleukotrienuria): Involvement of chronic hyperplastic rhinosinusitis with nasal polyposis. *J. Allergy Clin. Immunol.*, 2004, 113, 277–283.
46. Hirschberg J.: Mittheilung über einen Fall von Nebenwirkung des Aspirin. *Dtsch Med. Wschr.*, 1902, 28, 416.
47. James J., Warin R.P.: Chronic urticaria: the effect of aspirin. *Br. J. Dermatol.*, 1970, 82, 204–205.
48. Jenkins C., Costello J., Hodge L.: Systematic review of prevalence of aspirin induced asthma and its implications for clinical practice. *Br. Med. J.*, 2004, 328, 434–437.
49. Johansson S.G.O., Hourihane J.O.B., Bousquet J., Brujinzeel-Koomen C., Droborg S., Haahtela T., Kowalski M.L., Mygind N., Ring J., van Cauwenberge P., van Hage-Hamsten M., Wüthrich B.: A revised nomenclature for allergy: an EAACI position statement from the EAACI nomenclature task force. *Allergy*, 2001, 56, 813–824.

50. Joint Task Force on Practice Parameters representing the American Academy of Allergy, Asthma and Immunology, the American College of Allergy, Asthma and Immunology and the Joint Council of Allergy, Asthma and Immunology: The diagnosis and management of urticaria: a practise parameter. *Ann. Allergy Asthma Immunol.*, 2000, 85, 532–544.
51. Kaplan A.P.: Clinical practice. Chronic urticaria and angioedema. *N. Engl. J. Med.*, 2002, 346, 175–179.
52. Kasper L., Śladek K., Duplaga M., Bochenek G., Liebhart J., Gładysz U., Małolepszy J., Szczeklik A.: Prevalence of asthma with aspirin hypersensitivity in the adult population of Poland. *Allergy*, 2003, 58, 1064–1066.
53. Katz Y., Goldberg N., Kivity S.: Localized periorbital edema induced by aspirin. *Allergy*, 1993, 48, 366–369.
54. Kikuchi Y., Kaplan A.P.: Mechanisms of autoimmune activation of basophils in chronic urticaria. *J. Allergy Clin. Immunol.*, 2001, 107, 1056–1062.
55. Kowalski M.L., Grzegorzczak J., Wojciechowska B., Poniatowska M.: Intranasal challenge with aspirin induces cell influx and activation of eosinophils and mast cells in nasal secretions of ASA-sensitive patients. *Clin. Exp. Allergy*, 1996, 26, 807–814.
56. Kowalski M.L., Grzelewska-Rzymowska I., Rożniecki J., Szmidt M.: Aspirin tolerance induced in aspirin-sensitive asthmatics. *Allergy*, 1984, 39, 171–178.
57. Kowalski M.L., Pawliczak R., Woźniak J., Siuda K., Poniatowska M., Iwaszkiewicz J., Kornatowski T., Kaliner M.A.: Differential metabolism of arachidonic acid in nasal polyp epithelial cells cultured from aspirin-sensitive and aspirin-tolerant patients. *Am. J. Respir. Crit. Care Med.*, 2000, 161, 391–398.
58. Kowalski M.L., Ptaśńska A., Bienkiewicz B., Pawliczak R., DuBuske I.: Differential effects of aspirin and misoprostol on 15-hydroxyicosatetraenoic acid generation by leukocytes from aspirin-sensitive asthmatic patients. *J. Allergy Clin. Immunol.*, 2003, 112, 505–512.
59. Krilis S., Gregson R.P., Basten A., Baldo B.A.: Investigation of the possible involvement of IgE anti-salicyloyl antibodies in patients with urticaria. *Int. Arch. Allergy Appl. Immunol.*, 1981, 64, 293–301.
60. Kuehl F.A. Jr, Dougherty H.W., Ham E.A.: Interactions between prostaglandins and leukotrienes. *Biochem. Pharmacol.*, 1984, 33, 1–5.
61. Kumlin M., Dahlén B., Björck T., Zetterström O., Granström E., Dahlén S.-E.: Urinary excretion of leukotriene E₄ and 11-dehydro-thromboxane B₂ in response to bronchial provocations with allergen, aspirin, leukotriene D₄ and histamine in asthmatics. *Am. Rev. Respir. Dis.*, 1992, 146, 96–103.
62. Kumlin M., Stensvad F., Larsson L., Dahlén B., Dahlén S.-E.: Validation and application of a new simple strategy for measurements of urinary leukotriene E₄ in humans. *Clin. Exp. Allergy*, 1995, 25, 467–479.
63. Lam B.K., Penrose J.F., Freeman G.J., Austen K.F.: Expression cloning of a cDNA for human leukotriene C₄ synthase, an integral membrane protein conjugating reduced glutathione to leukotriene A₄. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 1994, 91, 7663–7667.
64. Lam B.K., Penrose J.F., Rokach J., Xu K., Baldasaro M.H., Austen K.F.: Molecular cloning, expression and characterization of mouse leukotriene C₄ synthase. *Eur. J. Biochem.*, 1996, 238, 606–612.
65. Lynch K.R., O'Neill G.P., Liu Q., Im D.-S., Sawyer N., Metters K.M., Coulombe N., Abramovitz M., Figueroa D.J., Zeng Z., Connolly B.M., Bai C., Austin C.P., Chateaufneuf A., Stocco R., Greig G.M., Kargman S., Hooks S.B., Hosfield E., Williams D.L. Jr, Ford-Hutchinson A.W., Caskey C.T., Evans J.F.: Characterization of the human cysteinyl leukotriene CysLT₁ receptor. *Nature*, 1999, 399, 789–793.

66. MacDermot J., Kelsey C.R., Waddell K.A., Richmond R., Knight R.K., Cole P.J., Dollery C.T., Landon D.N., Blair I.A.: Synthesis of leukotriene B₄ and prostanoids by human alveolar macrophages: analysis by gas chromatography/mass spectrometry. *Prostaglandins*, 1984, 27, 163–179.
67. MacLagan T.J.: The treatment of acute rheumatism by salicylin. *Lancet*, 1876, 342–383.
68. Małolepszy J. (red.): Choroby alergiczne i astma. Wrocław, Volumes, 1996.
69. Marone G.: The role of mast cell and basophil activation in human allergic reactions. *Eur. Respir. J.*, 1989, Suppl. 6, 446s–455s.
70. Marone G., Lichtenstein L.M., Galli S.J.: Mast cells and basophils. San Diego, Academic Press, 2000.
71. Marquette C.H., Saulnier F., Leroy O., Wallaert B., Chopin C., Demaro J.M., Durocher A., Tonnel A.B.: Long-term prognosis for near fatal asthma. A 6-year follow-up study of 145 asthmatic patients who underwent mechanical ventilation for a near-fatal attack of asthma. *Am. Rev. Respir. Dis.*, 1992, 146, 76–81.
72. Mastalerz L.: Astma aspirynowa: obraz kliniczny, patogeneza i leczenie. *Pol. Arch. Med. Wewn.*, 2004, 2, 251–257.
73. Mastalerz L., Gawlewicz-Mroccka A., Nizankowska E., Ćmiel A., Szczeklik A.: Protection against exercise-induced bronchoconstriction by montelukast in aspirin-sensitive and aspirin-tolerant patients with asthma. *Clin. Exp. Allergy*, 2002, 32, 1360–1365.
74. Mastalerz L., Milewski M., Duplaga M., Nizankowska E., Szczeklik A.: Intranasal fluticasone propionate for chronic eosinophilic rhinitis in patients with aspirin-induced asthma. *Allergy*, 1997, 52, 895–900.
75. Mastalerz L., Nizankowska E.: Testy prowokacyjne donosowe. *Pneumonol. Alergol. Pol.*, 1996, 64, 229–234.
76. Mastalerz L., Nizankowska E., Sanak M., Mejza F., Pierzchalska M., Bazan-Socha S., Bestyńska-Krypel A., Ćmiel A., Szczeklik A.: Clinical and genetic features underlying the response of patients with bronchial asthma to treatment with a leukotriene receptor antagonist. *Eur. J. Clin. Invest.*, 2002, 32, 949–955.
77. Mastalerz L., Sanak M., Szczeklik A.: Pharmacological inhibitors of cysteinyl leukotrienes biosynthesis: therapeutic implications. *Curr. Med. Chem. Antiinflam. Antiallergy Agents*, 2004, 3, 157–165.
78. Mastalerz L., Sanak M., Szczeklik A.: Serum interleukin-5 in aspirin-induced asthma. *Clin. Exp. Allergy*, 2001, 31, 1036–1040.
79. Mastalerz L., Setkowicz M., Sanak M., Szczeklik A.: Hypersensitivity to aspirin: common eicosanoid alterations in urticaria and asthma. *J. Allergy Clin. Immunol.*, 2004, 113, 771–775.
80. Milewski M., Mastalerz L., Nizankowska E., Szczeklik A.: Nasal provocation test with lysine-aspirin for diagnosis of aspirin-sensitive asthma. *J. Allergy Clin. Immunol.*, 1998, 101, 581–586.
81. Mita H., Endoh S., Kudoh M., Kawagishi Y., Kobayashi M., Taniguchi M., Akiyama K.: Possible involvement of mast-cell activation in aspirin provocation of aspirin-induced asthma. *Allergy*, 2001, 56, 1061–1067.
82. Moore-Robinson M., Warin R.P.: Effect of salicylates in urticaria. *Br. Med. J.*, 1967, 4, 262–264.
83. Nasser S., Christie P.E., Pfister R., Sousa A.R., Walls A., Schmitz-Schumann M., Lee T.H.: Effect of endobronchial aspirin challenge on inflammatory cells in bronchial biopsy samples from aspirin-sensitive asthmatic subjects. *Thorax*, 1996, 51, 64–70.
84. Nasser S.M., Lee T.H.: Leukotrienes and aspirin-sensitive asthma. W: Szczeklik A., Gryglewski R.J., Vane J. (red.): Eicosanoids, aspirin and asthma. New York, Marcel Dekker, 1998, 317–333.

85. Netti E., Di P.R., Ferrannini A., Tursi A.: Tolerability of Rofecoxib in patients with cutaneous adverse reactions to nonsteroidal anti-inflammatory drugs. *Ann. Allergy Asthma Immunol.*, 2002, 88, 331–334.
86. Niimi N., Francis D.M., Kermani F., O'Donnell B.F., Hide M., Kobza A., Winkelmann R.K., Greaves M.W., Barr R.M.: Dermal mast cell activation by autoantibodies against the high affinity IgE receptor in chronic urticaria. *J. Invest. Dermatol.*, 1996, 106, 1001–1006.
87. Nizankowska E., Bestyńska-Krypel A., Ćmiel A., Szczeklik A.: Oral and bronchial provocation tests with aspirin for diagnosis of aspirin-induced asthma. *Eur. Respir. J.*, 2000, 15, 863–869.
88. Obata T., Nagakura T., Kammuri M., Masaki T., Maekawa K., Yamashita K.: Determination of 9 alpha, 11 beta-prostaglandin F₂ in human urine and plasma by gas chromatography-mass spectrometry. *J. Chromatogr. B. Biomed. Appl.*, 1994, 655, 173–178.
89. Oelz O., Oelz R., Knapp H.R., Sweetman B.J., Oates J.A.: Biosynthesis of prostaglandin D₂. 1. Formation of prostaglandin D₂ by human platelets. *Prostaglandins*, 1977, 13, 225–234.
90. O'Sullivan S., Dahlén B., Dahlén S.-E., Kumlin M.: Increased urinary excretion of the prostaglandin D₂ metabolite 9α,11β-prostaglandin F₂ after aspirin challenge supports mast cell activation in aspirin-induced airway obstruction. *J. Allergy Clin. Immunol.*, 1996, 98, 421–432.
91. Pacor M.L., Di Lorenzo G., Biasi D., Barbagallo M., Corrocher R.: Safety of rofecoxib in subjects with a history of adverse cutaneous reactions to aspirin and/or non-steroidal anti-inflammatory drugs. *Clin. Exp. Allergy*, 2002, 32, 397–400.
92. Pavord I.D., Tattersfield A.E.: Bronchoprotective role for endogenous prostaglandin E₂. *Lancet*, 1995, 345, 436–438.
93. Pierzchalska M., Mastalerz L., Sanak M., Zazula M., Szczeklik A.: A moderate and unspecific release of cysteinyl leukotrienes by aspirin from peripheral blood leucocytes precludes its value for aspirin sensitivity testing in asthma. *Clin. Exp. Allergy*, 2000, 30, 1785–1791.
94. Pierzchalska M., Szabó Z., Sanak M., Soja J., Szczeklik A.: Deficient prostaglandin E₂ production by bronchial fibroblasts of asthmatic patients, with special reference to aspirin-induced asthma. *J. Allergy Clin. Immunol.*, 2003, 111, 1041–1048.
95. Ptak W., Ptak M.: Podstawy immunologii. Kraków, Wyd. UJ, 1999.
96. Quirarte J., Sáenz de San Pedro B., Florido J.J.F.: Safety of selective cyclooxygenase-2 inhibitor rofecoxib in patients with NSAID-induced cutaneous reactions. *Ann. Allergy Asthma Immunol.*, 2002, 89, 63–66.
97. Raud J., Dahlén S.-E., Sydbom A., Lindbom L., Hedqvist P.: Enhancement of acute allergic inflammation by indomethacin is reversed by prostaglandin E₂: apparent correlation with in vivo modulation of mediator release. *Proc. Nat. Acad. Sci. USA*, 1988, 85, 2315–2319.
98. Robinson D.S., Campbell D., Barnes P.J.: Addition of leukotriene antagonists to therapy in chronic persistent asthma: a randomised double-blind placebo-controlled trial. *Lancet*, 2001, 357, 2007–2011.
99. Rogala E. (red.): Zarys alergologii klinicznej. Katowice, ŚAM, 1994.
100. Rudzki E., Rebandel P.: Skuteczność diety aspirynowej. *Przegl. Dermatol.*, 2000, 1, 19–21.
101. Sabroe R.A., Fiebiger E., Francis D.M., Maurer D., Seed P.T., Stat C., Grattan C.E.H., Kobza Black A., Stingl G., Greaves M.W., Barr R.M.: Classification of anti-FcεRI and anti-IgE autoantibodies in chronic idiopathic urticaria and correlation with disease severity. *J. Allergy Clin. Immunol.*, 2002, 110, 492–499.
102. Sabroe R.A., Grattan C.E.H., Francis D.M., Barr R.M., Kobza Black A., Greaves M.W.: The autologous serum skin test: a screening test for autoantibodies in chronic idiopathic urticaria. *Br. J. Dermatol.*, 1999, 140, 446–452.
103. Sampson A.P., Cowburn A.S., Śladek K., Adamek L., Nizankowska E., Szczeklik A., Lam B.K., Penrose J.F., Austen K.F., Holgate S.T.: Profound overexpression of leukotriene C₄

- synthase in bronchial biopsies from aspirin-intolerant asthmatic patients. *Int. Arch. Allergy Immunol.*, 1997, 113, 355–357.
104. Sampson A.P., Siddiqui S., Buchanan D., Howarth P.H., Holgate S.T., Holloway J.W., Sayers I.: Variant LTC₄ synthase allele modifies cysteinyl leukotriene synthesis in eosinophils and predicts clinical response to zafirlukast. *Thorax*, 2000, 55, S28–S31.
 105. Samter M., Beers R.F. Jr: Intolerance to aspirin: clinical studies and consideration of its pathogenesis. *Ann. Intern. Med.*, 1968, 68, 975–983.
 106. Sanak M.: Zmienność genetyczna syntazy leukotrienu C₄ w astmie oskrzelowej. Rozprawa habilitacyjna, Kraków 2001.
 107. Sanak M., Levy B.D., Clish C.B., Chiang N., Gronert K., Mastalerz L., Serhan C.N., Szczeklik A.: Aspirin-tolerant asthmatics generate more lipoxins than aspirin-intolerant asthmatics. *Eur. Respir. J.*, 2000, 16, 44–49.
 108. Sanak M., Pierzchalska M., Bazan-Socha S., Szczeklik A.: Enhanced expression of the leukotriene C₄ synthase due to overactive transcription of an allelic variant associated with aspirin-intolerant asthma. *Am. J. Respir. Cell Mol. Biol.*, 2000, 23, 290–296.
 109. Sanak M., Sampson A.P.: Biosynthesis of cysteinyl-leukotrienes in aspirin-intolerant asthma. *Clin. Exp. Allergy*, 1999, 29, 306–313.
 110. Sanak M., Simon H.-U., Szczeklik A.: Leukotriene C₄ synthase promoter polymorphism and risk of aspirin-induced asthma. *Lancet*, 1997, 350, 1599–1600.
 111. Sanak M., Szczeklik A.: Leukotriene C₄ synthase polymorphism and aspirin-induced asthma. *J. Allergy Clin. Immunol.*, 2001, 107, 561–562.
 112. Sanchez-Borges M., Capriles-Hulett A., Caballero-Fonseca F., Pérez C.R.: Tolerability to new COX-2 inhibitors in NSAID-sensitive patients with cutaneous reactions. *Ann. Allergy Asthma Immunol.*, 2001, 87, 201–204.
 113. Sayers I., Barton S., Rorke S., Beghé B., Hayward B., Van Eerdewegh P., Keith T., Clough J.B., Ye S., Holloway J.W., Sampson A.P. and Holgate S.T.: Allelic association and functional studies of promoter polymorphism in the leukotriene C₄ synthase gene (LTC₄S) in asthma. *Thorax*, 2003, 58, 417–424.
 114. Schrör K., Smith III E.F.: Dictionary of prostaglandins and related compounds. München, Medikon Verl., 1990.
 115. Sestini P., Armetti L., Gambaro G., Pieroni M.G., Refini R.M., Sala A., Vaghi A., Folco G.C., Bianco S., Robuschi M.: Inhaled PGE₂ prevents aspirin-induced bronchoconstriction and urinary LTE₄ excretion in aspirin-sensitive asthma. *Am. J. Respir. Crit. Care Med.*, 1996, 153, 572–575.
 116. Setkowicz M., Mastalerz L., Szczeklik A.: Aspiryna, eikozanoidy i przewlekła pokrzywka idiopatyczna. *Przegl. Dermatol.*, 2003, 3/90, 159–167.
 117. Simmons D.L., Levy D.B., Yannoni Y., Erickson R.L.: Identification of a phorbol ester-repressible v-src-inducible gene. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 1989, 86, 1178–1182.
 118. Simon L.S.: Role and regulation of cyclooxygenase-2 during inflammation. *Am. J. Med.*, 1999, 106, 37S–42S.
 119. Śladek K., Dworski R., Soja J., Sheller J.R., Niżankowska E., Oates J.A., Szczeklik A.: Eicosanoids in bronchoalveolar lavage fluid of aspirin-intolerant patients with asthma after aspirin challenge. *Am. J. Respir. Crit. Care Med.*, 1994, 149, 940–946.
 120. Smith C.M., Hawksworth R.J., Thien F.C.K., Christie P.E., Lee T.H.: Urinary leukotriene E₄ in bronchial asthma. *Eur. Resp. J.*, 1992, 5, 693–699.
 121. Soter N.A., Lewis R.A., Corey E.J., Austen K.F.: Local effects of synthetic leukotrienes (LTC₄, LTD₄, LTE₄, LTB₄) in human skin. *J. Investig. Dermatol.*, 1983, 80, 115–119.
 122. Stevenson D.D., Sanchez-Borges M., Szczeklik A.: Classification of allergic and pseudoallergic reactions to drugs that inhibit cyclooxygenase enzymes. *Ann. Allergy Asthma Immunol.*, 2001, 87, 177–180.

123. Stevenson D.D., Simon R.A.: Lack of cross-reactivity between rofecoxib and aspirin in aspirin-sensitive patients with asthma. *J. Allergy Clin. Immunol.*, 2001, 108, 47–51.
124. Stevenson D.D., Simon R.A.: Sensitivity to aspirin and nonsteroidal antiinflammatory drugs. W: Middleton E. Jr, Reed C.E., Ellis E.F., Adkinson N.F. Jr, Yunginger J.W., Busse W.W. (red.): *Allergy: principles and practice*. T. 2. Wyd. 4. St Louis, Mosby, 1993, 1747–1765.
125. Stone E.: An account of the success of the bark of the willow in the cure of the agues. *Philos. Trans. R. Soc. Lond.*, 1763, 53, 195–200.
126. Szczeklik A.: Aspirin-induced asthma as a viral disease. *Clin. Allergy*, 1988, 18, 15–20.
127. Szczeklik A.: Prostaglandin E₂ and aspirin-induced asthma. *Lancet*, 1995, 345, 1056.
128. Szczeklik A.: The cyclooxygenase theory of aspirin-induced asthma. *Eur. Respir. J.*, 1990, 3, 588–593.
129. Szczeklik A., Dworski R., Mastalerz L., Prokop A., Sheller J.R., Nizankowska E., Ćmiel A., Oates J.A.: Salmeterol prevents aspirin-induced attacks of asthma and interferes with eicosanoid metabolism. *Am. J. Respir. Crit. Care Med.*, 1998, 158, 1168–1172.
130. Szczeklik A., Gryglewski R.J., Czerniawska-Mysik G.: Relationship of inhibition of prostaglandin biosynthesis by analgesics to asthma attacks in aspirin-sensitive patients. *Br. Med. J.*, 1975, 1, 67–69.
131. Szczeklik A., Mastalerz L., Nizankowska E., Ćmiel A.: Protective and bronchodilator effects of prostaglandin E and salbutamol in aspirin-induced asthma. *Am. J. Respir. Crit. Care Med.*, 1996, 153, 567–571.
132. Szczeklik A., Mastalerz L., Nizankowska E., Sanak M.: Montelukast for persistent asthma. *Lancet*, 2001, 358, 1456–1457.
133. Szczeklik A., Musiał J., Pulka G.: Autoimmune vasculitis and aortic stenosis in aspirin-induced asthma (AIA). *Allergy*, 1997, 52, 352–354.
134. Szczeklik A., Nizankowska E., Bochenek G., Nagraba K., Mejza F., Świerczyńska M.: Safety of a specific COX-2 inhibitor in aspirin-induced asthma. *Clin. Exp. Allergy*, 2001, 31, 219–225.
135. Szczeklik A., Nizankowska E., Duplaga M.: Natural history of aspirin-induced asthma. ALANE Investigators. European Network on Aspirin-Induced Asthma. *Eur. Respir. J.*, 2000, 16, 432–436.
136. Szczeklik A., Nizankowska E., Mastalerz L., Bochenek G.: Myocardial ischemia possibly mediated by cysteinyl leukotrienes. *J. Allergy Clin. Immunol.*, 2002, 109, 572–573.
137. Szczeklik A., Nizankowska E., Mastalerz L., Szabo Z.: Analgesics and asthma. *Am. J. Ther.*, 2002, 9, 233–243.
138. Szczeklik A., Nizankowska E., Sanak M.: New insights into the pathogenesis and management of aspirin-induced asthma. *Clin. Asthma Rev.*, 1998, 2, 79–86.
139. Szczeklik A., Nizankowska E., Sanak M., Mastalerz L., Bazan-Socha S.: Leukotrienes and antileukotriene drugs in bronchial asthma with special reference to aspirin intolerance. *Eur. Respir. Rev.*, 2000, 10, 280–282.
140. Szczeklik A., Nizankowska E., Serafin A., Dyczek A., Duplaga M., Musiał J.: Autoimmune phenomena in bronchial asthma with special reference to aspirin intolerance. *Am. J. Respir. Crit. Care Med.*, 1995, 152, 1753–1756.
141. Szczeklik A., Schmitz-Schumann M., Nizankowska E., Milewski M., Roehlig F., Virchow C.: Altered distribution of IgG subclasses in aspirin-induced asthma: high IgG4, low IgG1. *Clin. Exp. Allergy*, 1992, 22, 283–287.
142. Szczeklik A., Śladek K., Dworski R., Nizankowska E., Soja J., Sheller J., Oates J.: Bronchial aspirin challenge causes, specific eicosanoid response in aspirin-sensitive asthmatics. *Am. J. Respir. Crit. Care Med.* 1996, 154, 1608–1614.
143. Szczeklik A., Stevenson D.D.: Aspirin-induced asthma: advances in pathogenesis, diagnosis, and management. *J. Allergy Clin. Immunol.*, 2003, 111, 913–921.

144. Torres-Galvan M.J., Ortega N., Sánchez-García F., Blanco C., Carillo T., Quiralte J.: LTC₄-synthase A-444C polymorphism: lack of association with NSAID-induced isolated periorbital angioedema in a Spanish population. *Ann. Allergy Asthma Immunol.*, 2001, 87, 506–510.
145. Vane J.R., Botting R.M.: The history of aspirin. W: Vane J.R., Botting R.M. (red.): Aspirin and other salicylates. London, Chapman & Hall Medical, 1992, 3–16.
146. Vane J.R.: Inhibition of prostaglandin synthesis as a mechanism of action for aspirin-like drugs. *Nature New Biol.*, 1971, 231, 232–235.
147. Van Sambeek R., Stevenson D.D., Baldasaro M., Lam B.K., Zhao J., Yoshida S., Yandora C., Drazen J.M., Penrose J.F.: 5'Flanking region polymorphism of the gene encoding leukotriene C₄ synthase does not correlate with the aspirin-intolerant asthma phenotype in the United States. *J. Allergy Clin. Immunol.*, 2000, 106, 72–76.
148. Warin R.P.: The effects of aspirin in chronic urticaria. *Br. J. Dermatol.*, 1960, 72, 350–351.
149. Weltman J.K., Szaro R.P., Settupane G.A.: An analysis of the role of IgE in intolerance to aspirin and tartrazine. *Allergy*, 1978, 33, 273–281.
150. Whelan G.J., Blake K., Kissoon N., Duckworth L.J., Wang J., Sylvester J.E., Lima J.J.: Effect of montelukast on time-course of exhaled nitric oxide in asthma: Influence of LTC₄ Synthase A₄₄₄C polymorphism. *Pediatr. Pulmonol.*, 2003, 36, 413–420.
151. Wickelgren I.: Heart disease: gene suggests asthma drugs may ease cardiovascular inflammation. *Science*, 2004, 303, 941.
152. Widal F., Abrami P., Lermoyez J.: Anaphylaxie et idiosyncrasie. *Press Medical*, 1922, 30, 189–193.
153. Wierzuchowski M.: Dożylne stosowanie peptonu w dychawicy oskrzelowej. *Pol. Arch. Med. Wewn.*, 1925, 2, 42–76.
154. Zembowicz A., Mastalerz L., Setkowicz M., Radziszewski W., Szczeklik A.: Histological spectrum of cutaneous reactions to aspirin in chronic idiopathic urticaria. *J. Cutan. Pathol.*, 2004, 31, 323–329.
155. Zembowicz A., Mastalerz L., Setkowicz M., Radziszewski W., Szczeklik A.: Safety of cyclooxygenase 2 inhibitors and increased leukotriene synthesis in chronic idiopathic urticaria with sensitivity to nonsteroidal anti-inflammatory drugs. *Arch. Dermatol.*, 2003, 139, 1577–1582.

ISBN 83-233-1928-6



9 788323 19283